

PROBLÈMES D'ACIDIFICATION

Groupes de discussion

Auteurs:

Ernst Jakob, Ruedi Amrein, Hans Winkler
Station de recherche Agroscope Liebefeld-Posieux ALP-Haras,
CH-3003 Berne



Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra

Département fédéral de l'économie,
de la formation et de la recherche DEFR
Agroscope

Impressum

ISSN	1661-0814 (online) /19.12.2013
Editeur	Station de recherche Agroscope Liebefeld-Posieux ALP-Haras Schwarzenburgstrasse 161, CH-3003 Berne Tél. +41 (0)31 323 84 18, Fax +41 (0)31 323 82 27 info@alp.admin.ch, www.agroscope.ch
Photos	Station de recherche Agroscope Liebefeld-Posieux ALP-Haras
Mise en page	RMG Design, CH-1700 Fribourg
Copyright	© 2013 ALP-Haras Reproduction autorisée sous condition d'indication de la source et de l'envoi d'une épreuve à l'éditeur.

Table des matières

1	Introduction	4
2	Influence du lait cru sur l'acidification	4
2.1	Teneur en protéines	4
2.2	Composants antimicrobiens	4
2.3	Système lactoperoxydase (LPS)	4
2.4	Immunoglobuline (IG)	4
2.5	Leucocytes / Lysozymes	4
2.6	Lactoferrine	4
2.7	Acides gras libres	4
2.8	Résidus de produits de désinfection	5
2.9	Conclusion	5
3	Problèmes d'acidification provoqués par des substances antibiotiques	6
3.1	Inhibition des organismes de fermentation par des antibiotiques	6
3.2	Détection des antibiotiques	6
3.3	Méthodes utilisées dans la pratique pour la détection d'antibiotiques	8
4	Problèmes d'acidification provoqués par des phages	11
4.1	Bactériophages	11
4.2	Phages des bactéries lactiques	11
4.3	Comportement des phages dans le lait, le petit-lait et le fromage	12
4.4	Phages résistants à la chaleur et au pH	12
4.5	Sources de phages	12
4.6	Phages dans les cultures de petit-lait mûri (PLM)	13
4.7	Problèmes de phages lors de l'utilisation de cultures d'exploitation et de cultures d'ensemencement direct	14
4.8	Mesures contre les problèmes d'acidification liés aux phages	15
5	Production de cultures d'exploitation actives	16
5.1	Environnement pour la production de cultures	16
5.2	Chauffage du lait écrémé	16
5.3	Ensemencement de la culture d'exploitation	16
5.4	Incubation	17
5.5	Production de cultures de petit-lait mûri	17
5.6	Contrôle de la culture	17
5.7	Rotation des cultures	17
6	Influence de la saison et du volume de production dans l'exploitation	17
7	Paramètres critiques de fabrication	18
7.1	Préparation du lait de cuve	18
7.2	Suivi de la température	18
8	Résumé	19

1. Introduction

Un processus d'acidification normal est une condition sine qua non pour la fabrication d'un fromage de bonne qualité. Une acidification ralentie ou insuffisante a des répercussions sur la teneur en eau, la microflore, les propriétés de la pâte et la maturation du fromage. Le présent ALP-HARAS forum porte sur les causes possibles à l'origine des problèmes d'acidification, les moyens de les identifier et les mesures pour les éviter.

2. Influence du lait cru sur l'acidification

2.1 Teneur en protéines

La teneur en protéines du lait influence l'acidification. Si l'on compare des laits avec des teneurs en protéines très différentes, par exemple du lait de vaches avec celui de chèvres, on constate que dans un lait riche en protéines, le pH tombe plus lentement, l'effet tampon étant plus important. Dans une culture mixte thermophile, la phase de croissance des streptocoques est ainsi prolongée.

2.2 Composants antimicrobiens

Bien que le lait soit un milieu de croissance optimal pour les bactéries, il contient tout de même des substances qui peuvent inhiber leur croissance, notamment les substances suivantes qui font partie des «inhibiteurs» naturels du lait:

- Système lactoperoxydase
- Immunoglobuline
- Leucocytes
- Lysozyme
- Lactoferrine
- Acides gras libres

L'action inhibitrice de ces composants du lait est également qualifiée de bactéricides naturels du lait cru. Certaines de ces substances antimicrobiennes sont thermosensibles, de sorte que leur effet est anéanti par la pasteurisation du lait ou tout au moins fortement réduite; tel n'est pas le cas pour d'autres composants, par exemple, les lysozymes, la peroxydase, la lactoferrine et les acides gras libres.

A côté de ces «substances antibiotiques» naturelles, le lait peut aussi contenir des résidus de produits de désinfection et de produits vétérinaires antimicrobiens qui peuvent influencer l'acidification.

2.3 Système lactoperoxydase (LPS)

Le LPS, à action antimicrobienne, se compose de la lactoperoxydase – qui se trouve en abondance dans le lait - du thiocyanate et du peroxyde d'oxygène. L'activité du LPS est fonction de la teneur dans le lait en thio-cyanate, qui dépend du fourrage, et de la concentration de peroxyde d'oxygène, qui est produit par les bactéries lactiques ou certaines bactéries de la flore du lait cru.

2.4 Immunoglobuline (IG)

Le lait contient naturellement des anticorps (immunoglobuline) qui peuvent se lier à la surface des bactéries, par exemple des bactéries lactiques. On en trouve de fortes concentrations dans le colostrum. L'adhésion de l'immunoglobuline à la surface des bactéries a pour conséquence que celles-ci se lient aux globules gras ou s'agrègent et séudent. La sédimentation peut provoquer une acidification irrégulière dans le fromage frais (acidification plus forte au fond de la cuve). Lors de la fabrication du fromage (type présure), cela ne représente cependant aucun problème.

2.5 Leucocytes / Lysozymes

Les leucocytes, ou globules blancs du sang, possèdent également des propriétés antibactériennes. Ils sont capables de libérer des substances, telles que les lysozymes, thermostables, et d'autres substances actives antimicrobiennes. On trouve des concentrations élevées de leucocytes en particulier dans le lait mammitéux.

2.6 Lactoferrine

La lactoferrine est une protéine du lait qui lie le fer, un élément indispensable aux microorganismes. Elle possède également une autre propriété antimicrobienne. Le colostrum contient cinq fois plus de lactoferrine que le lait normal. On trouve également des concentrations importantes de lactoferrine lorsque le nombre de cellules est accru de même que dans le lait de la dernière semaine de lactation.

2.7 Acides gras libres

Les acides gras libres présentent eux aussi des propriétés antimicrobiennes. Celles-ci sont d'autant plus importantes que le pH est bas. Un lait de bonne qualité contient une concentration d'acides gras libres nettement en dessous de 1 mmol/kg et donc dix fois inférieure à la concentration nécessaire pour influencer l'acidification.

2.8 Résidus de produits de désinfection

Les produits de nettoyage et de désinfection servent à nettoyer et à désinfecter les surfaces en contact avec le lait et les produits laitiers. Les restes de ces produits doivent être totalement éliminés au moyen d'eau potable afin qu'ils n'exercent aucune influence négative sur les organismes de fermentation. Un facteur important est la rinçabilité des composés chimiques. Or, certains composés tensio-actifs, par exemple les composés d'ammonium quaternaires (QAV), adhèrent fortement à certains matériaux et il est difficile de les éliminer par rinçage.

Selon certaines observations faites dans la pratique, de plus en plus de solutions de pré-trempe pour la désinfection des pis sont utilisées. Cette situation a incité ALP-HARAS à tester l'effet de ces produits sur la croissance des bactéries lactiques. Il ressort d'un premier essai effectué avec six produits de pré-trempe que l'un d'eux inhibe fortement la croissance des bactéries lactiques. Selon les renseignements pris auprès du fabricant, ce produit contient 5-10% d'un composé d'ammonium quaternaire, le chlorure d'ammonium diméthyle didécyle. Les pis sont trempés dans une solution à 1% puis essuyés avec un chiffon jetable.

L'analyse de l'influence de ce produit de pré-trempe sur l'acidification de la culture CMB 101 a montré que la culture acidifie moins de 6,8°SH et de 2,8°SH avec un dosage de respectivement 0,1‰ et de 0,01‰ et une incubation de 8 heures (cf. fig. 1). De même, dans la culture incubée pendant 16 heures, on a constaté une diminution de l'acidification de respectivement 4,8 et 1,4°SH. L'image microscopique ne montrait aucune croissance visible dans la variante avec 0,05 ml/100 ml de lait (0,5‰). Dans la variante avec 0,1 ‰, les streptocoques présentaient une forme atypique.

Si l'utilisation des solutions de pré-trempe n'a pas été effectuée avec suffisamment de soin, des restes de ces produits contenant des QAV peuvent coller aux pis et, lors de la traite, être emportés par le lait et le contaminer. Or, comme déjà mentionné, les QAV adhèrent bien à la peau et à d'autres surfaces en raison de leurs propriétés tensio-actives.

Après une intervention d'ALP-HARAS auprès du fabricant, le produit de pré-trempe des pis contenant des QAV a été retiré du commerce. Cependant, il reste très probablement d'autres produits de ce type sur le marché.

Pour les pédiluves et la désinfection des sols et des parois, on utilise des produits contenant des composés d'ammonium quaternaires. Compte tenu de leur mauvaise rinçabilité, nous recommandons de n'utiliser aucun produit contenant des QAV pour le nettoyage et la désinfection des surfaces qui sont en contact avec le lait ou le caillé.

2.9 Conclusion

Certains composants du lait peuvent inhiber la croissance des bactéries. La teneur du lait en de telles substances dépend de l'affouragement, du stade de lactation, de la santé de la mamelle et de la qualité hygiénique du lait. Par conséquent, le lait cru des producteurs se différencie aussi au niveau du déroulement de l'acidification. L'effet du colostrum, du lait de fin de lactation et du lait mammitique est particulièrement important. Par ailleurs, il faut impérativement éviter les contaminations du lait avec des produits de désinfection contenant des QAV.

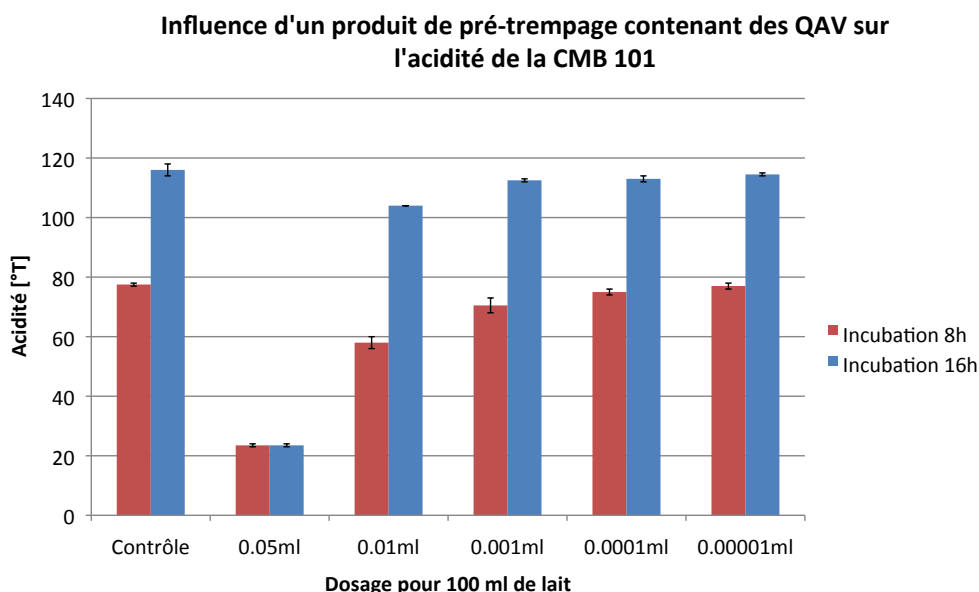


Fig. 1 : Influence des produits de pré-trempe contenant des composés d'ammonium quaternaires (QAV) sur l'acidification de la culture CMB 101 (8 et 16,h incubation à 38°C)

3. Problèmes d'acidification provoqués par des substances antibiotiques

3.1 Inhibition des organismes de fermentation par des antibiotiques

Les résultats du contrôle officiel du lait montrent que 0,04% des livraisons de lait sont positives aux substances antibiotiques (TSM Fiduciaire Sarl, 2010: Statistique annuelle du marché du lait 2009). Autrement dit, une fromagerie qui réceptionne le lait d'environ 25 producteurs de lait 2 fois par jour reçoit en moyenne du lait contaminé par des résidus d'antibiotiques 7 x par an. Selon la concentration des antibiotiques dans le lait et les dilutions qui suivent dans le lait de cuve, il peut en résulter des problèmes d'acidification plus ou moins importants.

Pour traiter les mammites, on utilise surtout des pénicillines (82% de traitements, cf. tab. 2). Selon le tableau 1, les bactéries lactiques font partie des bactéries les plus sensibles aux substances antibiotiques. Pour traiter une vache, on lui administre 1 à 8 millions d'unités (1 IE = 1µg) de pénicilline dans la mamelle. Si la première traite après le traitement parvenait involontairement dans la citerne de lait, la quantité d'antibiotiques contenue dans cette traite suffirait à rendre 200'000 litres de lait impropres à la transformation. Un décilitre de cette traite mélangé à 1'000 litre de lait de fabrication entraîne déjà des problèmes d'acidification dans le fromage!

Streptococcus thermophilus est particulièrement sensible aux pénicillines, alors que les lactobacilles le sont seulement à partir d'une concentration 20 fois plus élevée. Si la concentration d'antibiotiques dans le lait de cuve se situe

Tab. 1: Sensibilité à la pénicilline (pénicilline G) de différents microorganismes

Microorganisme	Concentration minimale d'antibiotiques [µg /l]
<i>Delvotest SP-NT (Geobacillus stearothermophilus)</i> ¹	2.5
<i>Streptococcus thermophilus</i> ²	10 – 50
<i>Lactococcus lactis</i> ²	100 – 250
<i>Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus</i> ²	250 – 500
<i>Lactobacillus helveticus</i> ²	250 – 500
<i>Propionibacterium shermanii</i> ²	50 – 100
<i>Staphylococcus aureus</i> ³	30
<i>Enterococcus faecalis</i> ³	2'000
<i>Escherichia coli</i> ³	60'000

Sources:

¹ Delvotest SP, Technical Bulletin. DSM Food Specialties B.V., Delft NL;

² R. Scott, Cheesemaking Practice, 3ème édition, 1998;

³ R.P. R Emmel, The Penicillins, University of Minnesota, 2013.

dans le domaine limite, il est possible dans ce cas que seule l'acidification initiale du fromage soit perturbée sans pour autant que le pH après 24 h ne se situe en dehors de la norme. Les pénicillines utilisées étant particulièrement sensibles à l'acidité, plus le pH baisse, plus leur action antimicrobienne diminue.

Les bactéries à gram-négatif, comme les *E. coli*, sont relativement insensibles aux pénicillines, ce qui explique par exemple que les fromages fabriqués avec du lait cru contenant des antibiotiques développent en général un gonflement précoce (fermentation due à *E. Coli*).

Selon nos estimations et si l'on se base sur le nombre d'échantillons positifs lors du contrôle du lait, les problèmes d'acidification que le fromager détecte sont sensiblement plus rares que ce que l'on pourrait escompter. Les raisons possibles en sont les suivantes:

- dilution du lait contenant des antibiotiques dans le lait de cuve,
- dilution par l'ajout d'eau au lait et/ou au caillé,
- sensibilité plus faible aux antibiotiques des bactéries lactiques par rapport au test antibiotique effectué en laboratoire (cf. tab. 1 et 2).

3.2 Détection des antibiotiques

Un grand nombre de fromageries ne procèdent à aucun test antibiotique particulier. Dans les directives de gestion de la qualité de Fromarte, de tels tests ne sont pas prescrits, vu que le contrôle de l'acidification dans le fromage et/ou dans le petit-lait de sortie sert indirectement de test de détection des antibiotiques. Seules les exploitations qui commercialisent du lait de consommation ou de la crème doivent effectuer des tests spécifiques de détection des antibiotiques.

Toutefois, en cas de bon déroulement de l'acidification, les cultures de bactéries lactiques ne réagissent pas aux antibiotiques de façon aussi sensible qu'elles le devraient pour garantir l'absence totale de substances antibiotiques. Comme il ressort du tableau 2, le test au yogourt est nettement moins sensible à la pénicilline que le Delvotest SP. La limite de détection du test au yogourt est quatre fois plus élevée que la valeur limite prescrite. Une culture thermophile (CMB) devrait se comporter de façon analogue.

Dans le cas de contaminations à la gentamicine, à la néomycine et à la canamycine, tant le test au yogourt que le Delvotest ne réagissent pas. Il est donc possible dans ce cas que du lait avec des concentrations trop élevées en antibiotiques soit transformé, alors que les valeurs d'acidification, en particulier de fin d'acidification (pH 24h), se situent encore dans la norme. ALP-HARAS est effectivement en possession d'un rapport d'analyse d'un

laboratoire cantonal selon lequel deux fromages présentaient des résidus de gentamicine. Ces fromages ont été déclarés impropres à la commercialisation puisque le lait transformé ne répondait pas aux exigences de l'Ordonnance réglant l'hygiène dans la production laitière.

Les auteurs du MQ FROMARTE étaient certes conscients de la problématique abordée, ils sont cependant arrivés à la conclusion qu'une mise en danger de la santé des consommateurs ayant ingéré un fromage faiblement contaminé par des substances antibiotiques, mais dont l'acidification s'était déroulée normalement, pouvait être exclue, étant donné que même dans un tel cas la dose journalière admissible (valeurs DJA) d'antibiotiques utilisés dans le traitement des mammites ne serait pas dépassée.

Dans certains pays d'exportation, par exemple les Etats-Unis, la loi prescrit que le lait de fabrication doit être contrôlé de manière rigoureuse quant à la présence d'antibiotiques. A l'automne 2012, les inspecteurs de la Food and Drug Administration (FDA), l'autorité américaine

compétente en matière de contrôle alimentaire, ont critiqué le fait que les fromageries artisanales suisses n'utilisaient pas systématiquement dans leur routine quotidienne des tests de détection des antibiotiques reconnus officiellement. Quant aux exportateurs de fromages, ils doivent de plus en plus souvent expliquer à leurs clients la façon dont en Suisse on garantit l'absence de résidus d'antibiotiques par des contrôles de détection.

ALP-HARAS recommande donc aux fromageries artisanales de contrôler tous les jours le lait de fabrication (lait de cuve ou de citerne) au moyen d'un test de détection des antibiotiques reconnu à l'échelle internationale, à l'instar de l'industrie laitière qui effectue des tels contrôles depuis plus de 30 ans. Ce faisant, ce thème de discussion récurrent serait définitivement clos. En plus, les fromageries y trouveraient aussi leur compte: dans le cas d'une contamination par des antibiotiques, elles pourraient réagir beaucoup plus rapidement et faire analyser en laboratoire les échantillons de réserve des producteurs de lait.

Tab. 2: Sensibilité des tests de détection par rapport aux antibiotiques utilisés pour le traitement des mammites

Classe d'antibiotiques Antibiotique	Utilisation pour le traitement des mammites CH 2008 ¹⁾	Valeur limite Lait (MRL) ²⁾	Limites de détection		
			Delvotest® SP – NT ³⁾	Test du yogourt 2.5 h ⁴⁾	Test du yogourt 4h ⁴⁾
	% der Gesamtmenge	[µg /L]	[µg /L]	[µg /L]	[µg /L]
Bêta-lactames	82.2%				
Amoxicilline		4	3-5	>3	7.5
Ampicilline		4	3-5	4	5
Céfalexine		100	60-100	100	2000
Cloxacilline		30	15-25	k.A.	k.A.
Pénicilline G		4	2.5	15	37.5
Aminoglycosides	14.6%				
DH-Streptomycine		200	≥1500	k.A.	k.A.
Gentamicine		100	200-500	500	1000
Canamycine		150	≥7500	k.A.	k.A.
Néomycine		1500	2000	k.A.	k.A.
Macrolides	2.2%				
Erythromycine		40	250	400	500
Spiramycine		200	≥350	k.A.	k.A.
Polypeptides	<0.3%				
Colistine		50	k.A.	k.A.	k.A.
Tétracyclines	<0.1%				
Chlorotétracycline		100	200-600	500	1000
Oxytétracycline		100	200-500	100	200
Sulfonamides	<0.1%	100	50-100	k.A.	k.A.

¹⁾ Flechtner O, Müntener C. 2009. Bericht über den Vertrieb von Antibiotika in der Veterinärmedizin. Berichtsperiode 2005-2008. www.swissmedic.ch/marktueberwachung

²⁾ Council Regulation (EEC) No 2377/90. (<http://eur-lex.europa.eu>)

³⁾ Delvotest SP, Technical Bulletin. DSM Food Specialties B.V., Delft NL (www.delvotest.com) et Le Breton et al. 2007. *Analytica Chimica Acta* 586, 280-283

⁴⁾ Mohsenzadeh M, Bahrainipour A. 2008. *Pak J Biol Sci* 11 (18) 2282-2285.

a.d. aucune donnée

3.3 Méthodes utilisées dans la pratique pour la détection d'antibiotiques

Il existe trois procédés de test fondamentalement différents pour la détection d'antibiotiques: le test enzymatique, le test immunologique et le test microbiologique (fig. 2). Chaque test a sa propre procédure:

Test enzymatique	L'échantillon de lait est mélangé avec un enzyme (la carboxypeptidase) et un colorant. Les antibiotiques du groupe des bêta-lactames lient l'enzyme et empêchent ainsi la transformation du colorant. Certains antibiotiques ne réagissent pas à ce test.
Test immunologique	L'échantillon de lait est mélangé avec des anticorps (AC) marqués contre les antibiotiques du groupe des bêta-lactames. Les molécules d'antibiotiques (MA) forment des complexes (MA-AC) avec celles des AC. L'échantillon liquide passe ensuite au travers d'une bande de papier qui contient à deux endroits des anticorps immobilisés: le premier ne peut lier que des AC non complexifiés, le second que les complexes MA-AC. Une coloration apparaît sur la bande de papier là où la substance a été liée (cf. fig. 2, image du bas, au milieu).
Test microbiologique	Le principe est le même que dans le test au yogourt. L'échantillon de lait est mélangé avec une bactérie-test très sensible aux antibiotiques (<i>Geobacillus stearothermophilus</i> var. <i>calidolactis</i>) et un indicateur de couleur puis incubé à 64°C. Si la bactérie croît, on observe en 2 à 2,5 heures un changement de couleur qui indique la présence d'antibiotiques.

En raison de leur mode de fonctionnement différent, les tests de détection des antibiotiques utilisés dans la pratique présentent de grandes variations en ce qui concerne la durée d'analyse et leurs spécificités (tab. 3).

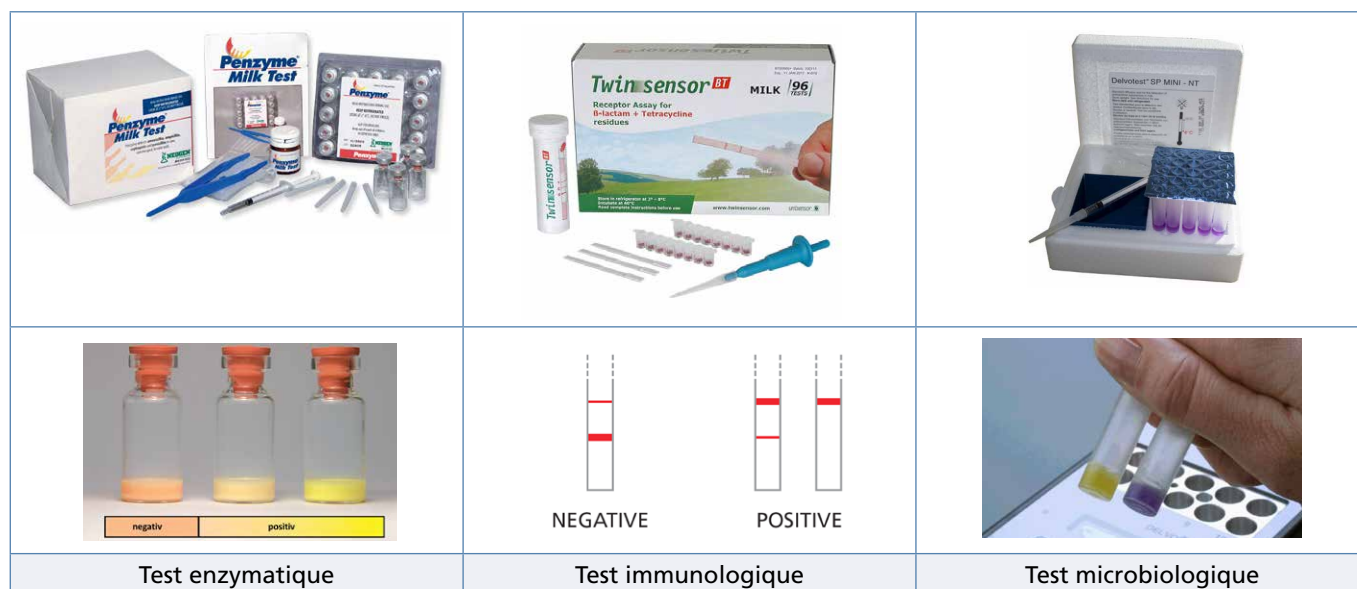


Fig. 2: Détection des antibiotiques: test enzymatique (Penzyme Milk Test), immunologique (Twinsensor BT/betasensor) et microbiologique (Delvotest SP mini NT)

Tab. 3: Avantages et inconvénients des différents types de tests

Principe	Avantages	Inconvénients
enzymatique	Test rapide	sélectif (seulement les antibiotiques du groupe des bêta-lactames) Pas toujours reconnu par les autorités
immunologique	Test rapide Limites de détection parfois très basses (nettement < MRL)	sélectif (seulement certains groupes d'antibiotiques)
microbiologique	Test à large spectre, utilisable pour tous les groupes d'antibiotiques; Reconnu par les autorités	Temps nécessaire >2h Pas assez sensible pour certains antibiotiques

Les tests rapides ne réagissent qu'à un groupe d'antibiotiques; quant aux tests microbiologiques, ils couvrent certes un plus large spectre d'antibiotiques, mais ils exigent davantage de temps.

Malheureusement, aucun des tests de détection des antibiotiques disponibles sur le marché ne peut détecter avec suffisamment de sensibilité tous les antibiotiques utilisés pour les traitements thérapeutiques (tab. 4). Cependant, les points faibles des divers tests concernent des substances actives qui, en Suisse, ne sont que rarement utilisées dans les préparations thérapeutiques (cf. fig. 3).

Pour effectuer un test rapidement et obtenir des résultats fiables sur l'absence ou la présence d'antibiotiques, il est conseillé d'utiliser un test de détection rapide des antibiotiques du groupe des bêta-lactames combiné à un test rapide des aminoglycosides (4Aminosensor) ou à un test microbiologique.

Les antibiotiques les plus souvent utilisés (néomycine, cloxacilline et benzylpénicilline, cette dernière est également appelée pénicilline G) sont détectés de façon fiable par tous les tests microbiologiques. Ces tests ont également l'avantage d'être reconnus officiellement par l'ensemble des pays importateurs.

Coûts

Appareillage de base: pour la plupart des tests, on a besoin d'un bloc chauffant muni d'une minuterie et d'un thermomètre ou d'un incubateur. Coûts: environ CHF 300.- à 500.-.

Les coûts du matériel d'usage courant (set de tests) s'élèvent de CHF 2.- à 6.- par test, selon le test et la quantité commandée. Il peut être intéressant financièrement de commander un grand nombre de tests.

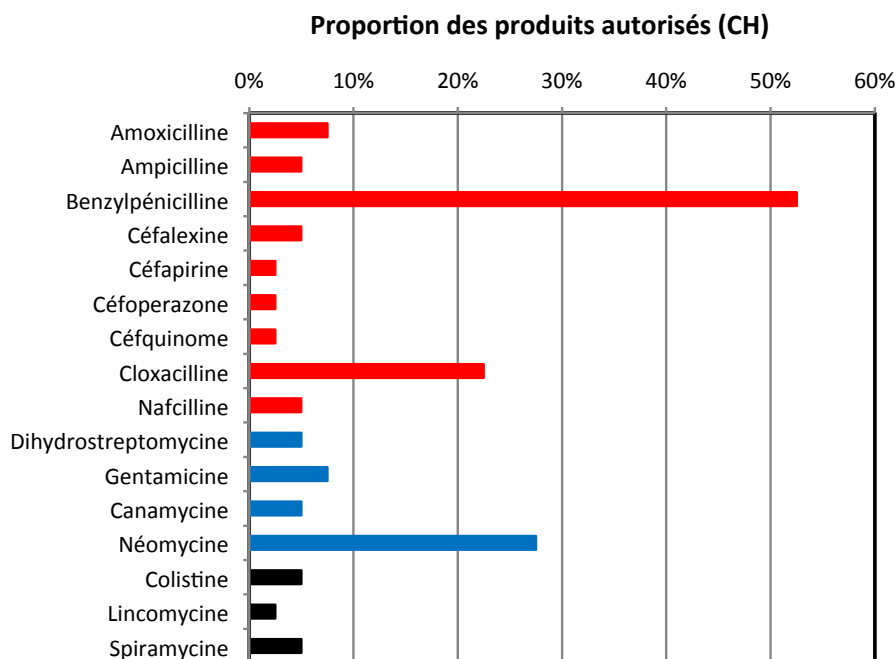



Fig. 3: Substances antibiotiques des produits vétérinaires autorisés en Suisse pour le traitement des mammites (CH, état 2012). Barre rouge = Antibiotiques du groupes des bêta-lactames, barre bleue = aminoglycosides, barre noire = autres groupes d'antibiotiques

Tab. 4: Tests de détection des antibiotiques commercialisés en Suisse

Test	Penzyme S100	New Snap beta-Lactam	Delvotest® BLF	Beta s.t.a.r	ROSA MRLBL3 beta-lactam	betasensor	4Aminosensor	AIM BRT Suchtest	Delvotest SP NT (3 h)	Blue_Yellow II Test
Fabricant	Neogen (US)	IDEXX Lab. (US)	DSM (NL)	Neogen (US)	Charm Sciences (US)	Unisenor (B)	Unisenor (B)	AIM GmbH (D)	DSM (NL)	Charm Sciences (US)
Principe du test	enzymatique	immunologique	immunologique	immunologique	immunologique	immunologique	immunologique	microbiologique	microbiologique	microbiologique
Durée	15-22 min.	8-10 min.	5 min.	5 min.	3 min.	6 min.	6 min.	2.5 - 3 h	2.5 - 3 h	2.5 - 3 h
Bêta-lactames										
Amoxicilline										
Ampicilline										
Benzylpénicilline										
Céfalexine										
Céfoperazone										
Céfapirine										
Céfquinome										
Cloxacilline										
Amino-glycosides										
Streptomycine DH										
Gentamycine										
Canamycine										
Néomycine										
Autres										
Spiramycine										
Colistine										
Lincomycine										
Tétracycline										
Appareils nécessaires	Incubateur 47°C, mélangeur, pipette	Incubateur; pipette	Incubateur; pipette	Incubateur; pipette	Incubateur; pipette	Pipette	Incubateur; pipette	Incubateur; pipette	Incubateur; pipette	Incubateur; pipette
Importateur en CH	Winkler AG, Konolfingen	provot AG, Lyssach	prochem AG, Zürich	Winkler AG, Konolfingen	Instrumenten-Gesellschaft AG, Zürich	Chemie Brunschwig AG, Basel	Chemie Brunschwig AG, Basel	Winkler AG, Konolfingen	prochem AG, Zürich	Instrumenten-Gesellschaft AG, Zürich

Sensibilité du test

 Bonne à très bonne 

 Légèrement insuffisante 

 Nettement insuffisante 

 Aucune 

4. Problèmes d'acidification provoqués par des phages

Les problèmes d'acidification provoqués par des phages occupent la première place en termes de fréquence et de pertes économiques, car ce sont surtout les grandes exploitations produisant en charges qui sont touchées. C'est pourquoi différentes mesures sont prises dans la transformation du lait. Elles ont pour objectif d'éviter les contaminations par des phages ou de renforcer les mécanismes de défense contre les phages (cf. paragraphe 4.8).

Dans le cas de problèmes d'acidification provoqués par des phages, le fromage peut présenter un pH final trop élevé et trop de sucres résiduels de sorte que des défauts de fermentation peuvent apparaître, comme le putrificus. En plus des problèmes d'acidification, les phages peuvent aussi provoquer d'autres défauts. S'ils anéantissent par exemple une souche productrice d'arôme, cela aura aussi une influence sur le développement de l'arôme. Autre exemple: dans un produit laitier probiotique, si un phage infecte une souche probiotique ajoutée, le nombre de germes prescrit pour bénéficier de cette dénomination ne sera plus atteint.

4.1 Bactériophages

Les bactériophages sont des virus spécialisés dans l'attaque des cellules bactériennes, dont la taille correspond à peu près à celle des micelles de caséine (20 – 200 nm). Comme tous les virus, les bactériophages n'ont pas de métabolisme propre, ils ne peuvent pas se déplacer par leurs propres moyens et ont impérativement besoin d'une cellule hôte pour se multiplier. Il y a environ 15 familles de bactériophages qui se différencient par leur forme, leur spectre d'hôtes et par d'autres caractéristiques. Les bactériophages sont partout: on estime qu'il y a sur la planète dix fois plus de bactériophages que de cellules bactériennes.

4.2 Phages des bactéries lactiques

La plupart des phages des bactéries lactiques se composent d'une tête et d'une longue queue constituées toutes les deux de protéines. Dans la tête se trouve le support génétique de l'information, l'ADN du phage. A la fin de la queue se trouvent des molécules de protéines, qui reconnaissent les caractéristiques particulières de la surface des cellules hôtes et qui peuvent s'y lier (fig. 4). Si un phage adhère à la surface, il perce la paroi cellulaire de la cellule bactérienne et y injecte son ADN.

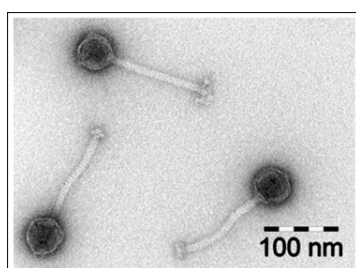


Fig. 4: Prise de vue au microscope électronique de phages de *Lactococcus lactis* (Photo: Max Rubner Institut, Kiel)

Les bactériophages peuvent se reproduire de deux manières (fig. 5):

- Lors du cycle de reproduction lytique, l'ADN du phage prend le commandement de la cellule bactérienne. Celle-ci produira dès lors de nouveaux phages, jusqu'à 200 à la fois! Une fois que les nouveaux phages formés sont arrivés à maturité, ils produisent des enzymes qui dissolvent la paroi cellulaire et libèrent les phages.
- Lors du cycle de reproduction lysogénique, l'ADN du phage intègre le chromosome de la cellule bactérienne et est ainsi inactivé. On parle dans ce cas d'un prophage. A chaque division cellulaire de la bactérie, le prophage est reproduit.

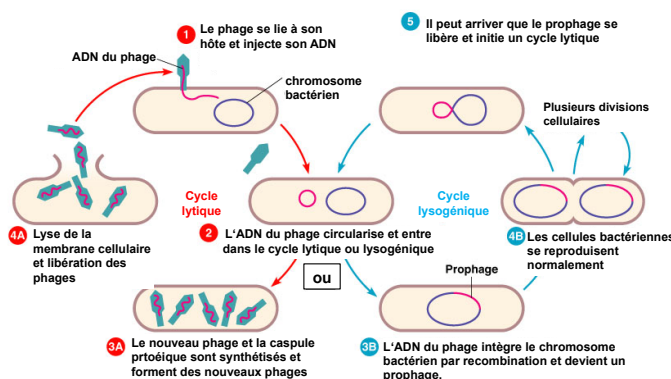


Fig. 5: Cycle de reproduction lytique et lysogénique des phages par le biais de cellules bactériennes

En analysant l'ADN des souches des bactéries lactiques, on a constaté que les lactobacilles contiennent en règle générale des prophages dans leur génome. Par contre, dans le cas de *Streptococcus thermophilus*, il semble que ce soit plutôt rare. Les cultures mixtes brutes abritent toujours des souches qui portent un prophage dans leur génome!

Un prophage dans le génome de la cellule bactérienne peut avoir des avantages, par exemple protéger contre des contaminations dues à des phages virulents. Dans certaines circonstances toutefois, un prophage peut redevenir actif et déclencher un cycle de reproduction lytique (cf. fig. 5, point 5). Les facteurs déclenchant peuvent être les suivants:

- Stress dû à la chaleur (par exemple température de chauffage élevée)
- Manque de substances nutritives
- Concentration élevée en sel
- Stress dû au pH
- Substance active antimicrobienne
- Rayonnement UV, etc.

4.3 Comportement des phages dans le lait, le petit-lait et le fromage

Etant donné que la surface des phages est constituée de protéines, celle-ci a, selon le pH du milieu, une charge électrique plus ou moins forte. De ce fait, les phages ont tendance à adhérer à des surfaces avec des charges électriques opposées, par exemple à la surface des micelles de caséine. La figure 6 montre comment dans le lait écrémé la proportion de phages libres chute de 60% à 10% lorsque le pH du lait s'abaisse de 6,5 à 4,7. Par contre, si le pH s'abaisse au-dessous de 4,7, les phages sont repoussés par la caséine et redeviennent libres. Dans le petit-lait, cette dépendance au pH des phages libres n'existe pas, vu qu'il n'y a pas de caséine.

Or, ce qui est déterminant dans la contamination des bactéries lactiques, ce n'est pas seulement le nombre de phages libres par millilitre, mais aussi la capacité des phages à adhérer à la surface des bactéries. Selon la littérature à ce sujet (Watanabe, 1972), les phages présentent dans un milieu faiblement acide à faiblement alcalin l'infectiosité la plus élevée. Il semble que les bactéries lactiques soient protégées contre les phages si la culture a un pH situé entre 4,7 et 5,0. Le stockage au frais du lait écrémé ensemencé jusqu'au moment de l'incubation, couramment pratiqué dans les fromageries en Suisse, ne devrait cependant pas poser de problèmes étant donné que le taux de contamination à une température inférieure à 6°C est également réduit et aucune multiplication notable des bactéries ne se produit.

Dans le fromage, l'infectiosité des phages est limitée, vu qu'ils sont immobilisés avec les cellules hôtes dans la

matrice fromagère et, en raison du pH, adhèrent essentiellement à la caséine. Seule la proportion des bactéries lactiques déjà contaminées au moment de la coagulation du lait est déterminante pour le déroulement de l'acidification dans le fromage. Dans le petit-lait de sortie en revanche, les phages peuvent attaquer les cellules hôtes sans entrave, raison pour laquelle il arrive souvent que l'acidification du petit-lait de sortie soit insatisfaisante, alors que l'acidification dans le fromage (sonde ou pH) se déroule normalement.

4.4 Phages résistants à la chaleur et au pH

Autrefois, les phages des bactéries lactiques étaient considérés comme peu résistants à la chaleur (inactivation par la pasteurisation). Aujourd'hui, il semble que cette observation ne soit plus valable. On constate en effet que certains phages ne sont pas totalement inactivés même après un traitement thermique de 15 min à 95°C. C'est en particulier dans les établissements industriels de transformation du lait, semble-t-il, que les phages résistants à la chaleur se sont développés.

Les phages sont en général résistants aux alcalins, mais sensibles aux acides. Des phages de bactéries lactiques peuvent parfois résister sans dommages à des traitements de 30 min à un pH de 11! Par contre à un $\text{pH} \leq 2,5$, ils sont rapidement inactivés (Nakai et al. 1999). Selon des constatations faites dans la pratique, certains phages peuvent survivre pendant des jours dans le produit de nettoyage alcalin d'une installation à une température de 75°C, en particulier quand celle-ci n'est pas régulièrement épurée.

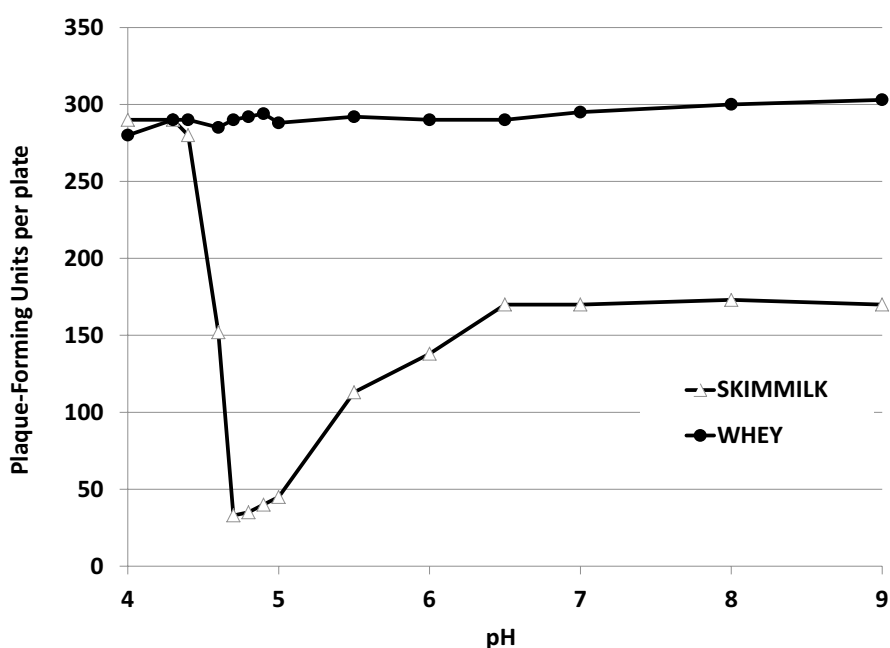


Fig. 6: Nombre de phages libres (Plaque-Forming Units) dans le lait écrémé (skimmilk) et le petit-lait (whey) après ensemencement de phages en présence de différents pH (Source: Erskine J.M., 1970).

4.5 Sources de phages

En plus de la culture elle-même, qui peut abriter des prophages, l'environnement de la fabrication est source de nombreux agents infectieux:

Lait cru

Dans une exploitation de production laitière, les bactéries lactiques, en particulier les lactobacilles, sont omniprésents: dans l'herbe, dans les mélanges d'aliments humides, sur la peau des pis, dans les installations de traite, etc. Il en va de même des phages. Une température élevée du lait entreposé entraîne une multiplication rapide des bactéries lactiques du lait cru et favorise ainsi la multiplication des phages.

Environnement de fabrication

Même si on utilise une culture exempte de phages et du lait pasteurisé, il faut s'attendre à des contaminations par des phages et à la multiplication de ceux-ci déjà dans le lait de cuve et dès la fin de la phase de latence des bactéries lactiques. On trouve donc toujours et dans tous les recoins de la fromagerie des phages de bactéries lactiques, d'autant plus si de grandes quantités de petit-lait stagnent dans l'exploitation.

Recirculation des composants du lait

- Petit-lait, utilisé pour rincer les installations de fabrication.
- Sérac, utilisé pour affiner la pâte du fromage.
- Crème de petit-lait

Réceptacles de transport

- Réceptacles utilisés pour le transport du petit-lait (boilles,

citerne) réutilisés par le producteur de lait pour la livraison du lait.

4.6 Phages dans les cultures de petit-lait mûri (PLM)

Dans les fromageries utilisant des cultures de petit-lait mûri, il arrive fréquemment, après un redémarrage avec des cultures sur lait maigre, que l'acidification des cultures (PLM) chute après deux à trois jours. Selon un essai réalisé chez ALP-HARAS avec la CM 410 Lyo (culture de plusieurs souches définies, lyophilisée et simulation de la fabrication de fromage d'alpage bernois AOP), on a constaté qu'après la deuxième culture de petit-lait mûri déjà il n'y avait pratiquement plus de lactobacilles. Par ailleurs, l'activité de l'acidification s'était nettement affaiblie (cf. fig. 7). Au cours des jours suivants, la proportion de lactobacilles dans la culture a ré-augmenté et l'acidification s'est améliorée, les bacilles résistants aux phages ayant réussi à s'imposer. Toutefois, au cours des jours qui ont suivi, des problèmes d'acidification ont à nouveau été signalés.

Selon la figure 7, la première fabrication a été effectuée avec de la CM 410 Lyo d'ALP-HARAS,ensemencée dans du lait stérile. Les fabrications suivantes ont étéensemencées avec le petit-lait mûri du jour d'avant.

Sur la base de ces observations, la CM 410 Lyo a été améliorée. Les souches sensibles aux phages ont été remplacées par des souches de la collection d'Agroscope résistantes aux phages d'un petit-lait provenant d'une fromagerie qui utilise la CM 410 Lyo. Après cette substitution de souches, la culture adaptée a été utilisée dans la fabrication fromagère avec succès.

Dans un travail effectué en collaboration entre ALP-HARAS

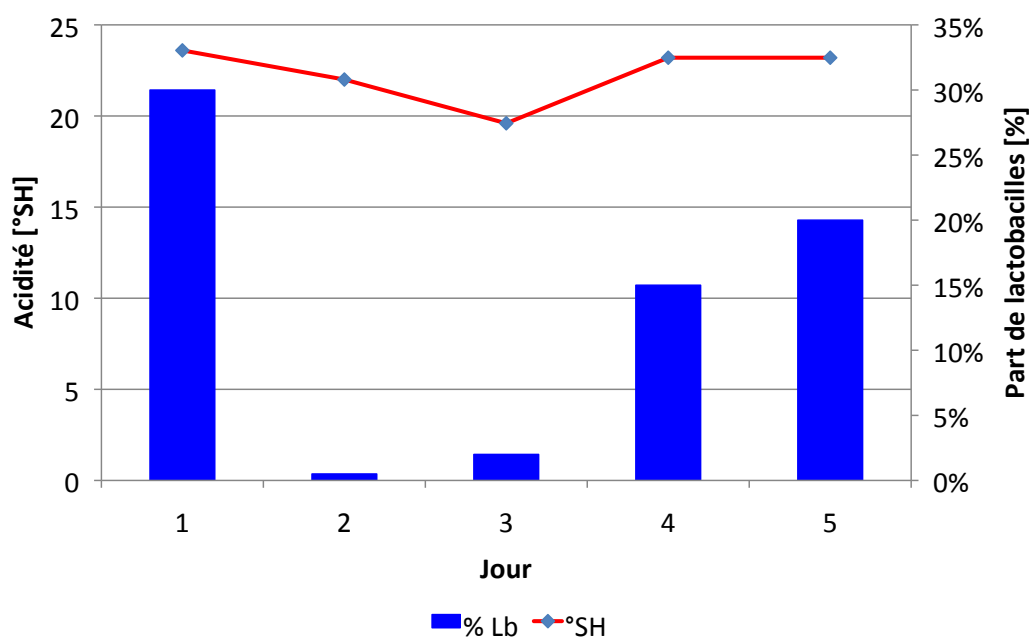


Fig. 7: Activité de l'acidification et proportion de lactobacilles dans une culture sur petit-lait mûri.

et la Haute école zurichoise des sciences appliquées de Wädenswil (ZAHW), des échantillons de petit-lait prélevés dans 29 fromageries fabriquant du Gruyère ont été analysés quant à la présence de phages. En guise de souches-test, on a utilisé trois souches de bactéries lactiques possédant un spectre de phages particulièrement large. Pour détecter les phages, on a ajouté 1 pour mille de microfiltrat dilué à 1:100 aux cultures composées des souches-test. L'analyse a donné les résultats suivants:

- Tous les petits-laits ont inactivé la souche-test au niveau des lactobacilles (*Lb. delbrückii* ssp. *bulgaricus*)
- Seulement 2 des 29 microfiltrats ont pu inactiver une des deux souches-test de *Str. thermophilus*.

Dans une seconde étape, la sensibilité face aux phages isolés des souches individuelles isolées de la culture pour Gruyère AOC-G1, composée de *Str. thermophilus* et de *Lb. delbrückii* ssp. *Lactis*, a été testée. Dans le cas des lactobacilles, on a constaté (tab. 5) que:

- chaque petit-lait contenait un phage en mesure d'infecter une, voire plusieurs souches de la culture AOC-G1;
- 2 des 5 souches de lactobacilles se sont révélées passablement résistantes, l'une même très résistante.

Les courbes d'acidification établies lors de l'utilisation de la culture AOC-G1 montrent qu'un seul phage parmi les phages isolés n'est pas en mesure de modifier de façon significative le comportement de la culture lors de l'acidification.

Les essais confirment qu'une culture de petit-lait mûri est, en dépit de la présence de phages, un système relativement résistant, c'est-à-dire qu'un équilibre s'établit entre les phages et les bactéries hôtes. Cela s'explique par le fait que :

- les différentes souches de bactéries lactiques ont toutes un spectre différent de phages et celui-ci se modifie sans cesse en raison de mutations; les phages peuvent même devenir résistants.
- la virulence des phages varie d'un phage à l'autre: ils

peuvent certes infecter une souche de bactéries lactiques, mais ne peuvent que ralentir leur croissance.

Néanmoins, des problèmes d'acidification dus aux phages dans une culture de petit-lait mûri sont possibles à tout moment, les phages pouvant s'adapter aux cellules potentiellement hôtes!

4.7 Problèmes de phages lors de l'utilisation de cultures d'exploitation et de cultures d'ensemencement direct

Certaines cultures sont particulièrement sensibles aux phages pour les raisons suivantes:

- Le nombre de souches généralement bas (le plus souvent seulement 2 ou 3 souches) augmente le risque d'une défaillance de la culture
- Si on utilise toujours la même composition de cultures, on facilite la propagation des phages infectant les souches utilisées dans l'environnement de fabrication.

Les exploitations produisant en charges et les établissements industriels de fabrication fromagère sont particulièrement menacés par les phages. Les principaux producteurs de cultures qui fournissent les transformateurs de lait industriels le savent et sélectionnent donc régulièrement des mutants insensibles aux bactériophages (BIM) en exposant leurs souches à des phages présents dans les fromageries. Ils procèdent ensuite à une culture des mutants résistants de la souche. Lorsqu'un tel mutant est stable pendant plusieurs passages, on remplace une vieille souche de la culture par ce mutant. Mais ce procédé a aussi des revers: Si les souches sélectionnées présentent des propriétés modifiées de la protéolyse ou un autre comportement lors de l'acidification, le remplacement d'une souche peut se répercuter sur les propriétés de la culture, étant donné que les cultures d'ensemencement direct ne se composent que de quelques souches.

4.8 Mesures contre les problèmes d'acidification liés

Tab. 5: Sensibilité des souches individuelles de *Lb. delbrückii* ssp. *Lactis*, issues de la culture AOC-G1, face aux phages de lactobacilles isolés d'échantillons de petit-lait de diverses fromageries fabriquant du Gruyère. (Réduction de la croissance: ++ > 40%; + = 10 – 39%; - pas d'inhibition)

Phages issus du petit-lait n° Souche-test	4218	4402	4397	4122	4217	4223	4345	4384
FAM 19109 (AOC-G1)	++	+	++	+	+	-	+	++
FAM 19112 (AOC-G1)	+	+	+	+	+	+	-	-
FAM 19108 (AOC-G1)	+	-	-	-	-	-	-	-
FAM 19110 (AOC-G1)	-	+	-	-	-	-	-	-
FAM 19113 (AOC-G1)	-	-	-	-	-	-	-	-

aux phages

Si l'on veut lutter efficacement contre les contaminations provoquées par des phages, des mesures de prévention sont nécessaires à différents échelons. Les mesures les plus importantes sont énumérées dans le tableau 6.

Tab. 6: Mesures de prévention contre les contaminations dues aux phages en fabrication fromagère (selon Briggiler Marcó, Moineau et Quiberoni, 2012).

Source des phages	Stratégie	Mesures
Fromagerie	Plan, aménagement, installation	Séparation des zones de fabrication Installations fermées (par ex. cuve fermée) Filtration de l'air Zone de fabrication en surpression Mesures pour éviter les aérosols
	Déroulement du processus	Optimisation des processus Echelonnement dans le temps Rotation des cultures
	Nettoyage / désinfection	Nettoyage/renouvellement de la solution alcaline du CIP Nettoyage à l'acide en alternance Désinfection (acide péraacétique), UV Mesures pour éviter les aérosols
Lait cru	Microbiologie	L'entreposage au frais empêche la multiplication des phages
	Traitement du lait	Traitement thermique
Cultures	Cultures exemptes de phages	Utilisation de cultures résistantes Travail en conditions stériles Local séparer (surpression) Changement d'habits, désinfection des mains
	Interruption des cycles	Rotation des cultures
	Milieu de culture	Milieu de culture stérile Milieu spécial inhibiteur de phages/anti-phages (par ex. additifs liant le calcium tels que le citrate, polyphosphate, etc.)
Recirculation des composants du lait	Petit-lait	Mesures pour éviter la formation d'aérosols (lors du remplissage, nettoyage, etc.)
	Crème de petit-lait	Pasteurisation haute Interruption du circuit une fois par semaine
Autres	Reprise du petit-lait par les producteurs	Ne laisser aucun récipient de transport dans la fromagerie
	Entretien	Contrôler régulièrement les joints Contrôler si la citerne/cuve présente des fissures

5. Production de cultures d'exploitation actives

Une condition importante pour éviter des problèmes d'acidification dus aux phages consiste à avoir des cultures d'exploitation actives et équilibrées au niveau de leurs propriétés, production après production. Le contrôle du degré d'acidité lors de chaque utilisation fait partie des bonnes pratiques de fabrication!

La production de cultures d'exploitation influence fortement leur qualité. Il est recommandé de contrôler régulièrement les diverses phases de travail et de prendre des mesures si nécessaire.

- L'état de mes locaux est-il en ordre?
- Est-ce que je travaille dans des locaux propres, secs et bien aérés?
- Quand et quels travaux dois-je accomplir?

5.1 Environnement pour la production de cultures

Il faut accorder une attention particulière aux points suivants:

Bouteilles pour les cultures

- Utiliser uniquement des bouteilles en verre et des couvercles propres et stériles
- N'utiliser que des brosses pour bouteilles qui ne griffent pas le verre

Nettoyage

- Immédiatement après usage, bien rincer – mettre dans une solution alcaline – nettoyer – rincer – mettre dans une solution acide (en aucun cas dans le bac des tôles ou le bac de soutirage) – bien rincer
- Utiliser uniquement des produits détergents et désinfectants qui se rincent facilement et qui ne contiennent aucun composé d'ammonium quaternaire (QAV)
- Respecter les concentrations recommandées pour les produits de nettoyage
- Réutiliser les bouteilles immédiatement après leur nettoyage ou les entreposer, l'ouverture vers le bas et dans un endroit sec, adéquat.



Tab. 8: Place de travail pour la production de cultures

Milieu de culture, remplissage des bouteilles:

- Lait écrémé fraîchement centrifugé ou lait écrémé en poudre (9 litres d'eau et 1 kg de lait écrémé en poudre instantané)
- Volume de remplissage: utiliser autant que possible tout le volume de remplissage des bouteilles, tout en laissant un espace de tête suffisant pour la dilatation du milieu de culture due à la chaleur.

==> Le lait écrémé doit être stérilisé quand il est frais!

5.2 Chauffage du lait écrémé

Pour la stérilisation, il est conseillé de chauffer le lait dans une marmite à vapeur ou un autoclave. Le brunissement du lait après la stérilisation sert de critère pour la température et la durée de chauffage. Le lait stérilisé ne doit présenter qu'un faible brunissement. Il est conseillé de stocker le lait écrémé chauffé dans le frigidaire jusqu'à son utilisation !

Si l'on utilise comme milieu de culture du lait écrémé UHT, il faut veiller à ce qu'il soit stocké dans un lieu sec et propre. Si au lieu d'une stérilisation, le lait n'est chauffé que pendant 90 à 120 minutes à une température située entre 95 et 98 °C (marmite de Bert-schinger), il faut veiller à:

- Utiliser du lait écrémé ou du lait en poudre spécialement adapté à la production de cultures
- Bien refroidir le milieu après la „stérilisation“ et l'utiliser rapidement (risque de spores germinatives, év. psychrotrophes)

5.3 Ensemencement de la culture d'exploitation

- Lieu extérieur sec et parfaitement propre ou local adapté, indépendant de la production
- Ensemencer le milieu soit le matin comme première tâche ou après la production de fromage, une fois douché et les habits changés
- Il faut éviter que de l'air ne pénètre dans les flacons contenant la culture. Après l'ensemencement, extraire l'air de la pipette en pressant sur le capuchon rouge puis refermer le flacon avec la pipette.
- Si les cultures sont incubées dans un bain-marie, le milieu de culture doit êtreensemencé à froid (risque de contamination microbologique plus faible). Si le lait stérilisé est ajusté avant l'ensemencement à la température d'incubation, celui-ci doit être stocké au moins 12 heures dans l'étuve.
- Se désinfecter les mains et l'„environnement d'ensemencement“. A cet effet, utiliser de l'alcool à 80% ou de l'isopropa-nol à 70%: temps d'action d'au moins 1 minute pour une bonne imprégnation de la surface.

6. Influence de la saison et du volume de production dans l'exploitation

5.4 Incubation

Pendant le stockage des cultures d'exploitation, l'activité des cultures diminue (acide). Afin de remédier à ce problème, il est conseillé d'ensemencer les litres de lait écrémé stérilisé avec la culture puis de les conserver au frais et de les incuber juste avant l'utilisation.

Avantages:

- En pratiquant ainsi, le flacon contenant la culture souche n'est ouvert qu'une seule fois
- L'activité des bactéries lactiques est mieux préservée dans du lait stérilisé avec un pH proche du neutre que dans une culture avec un pH bas.

5.5 Production de cultures de petit-lait mûri

Dans la production de cultures de petit-lait mûri, il y a de nombreuses variations, selon l'objectif et l'utilisation. Pour obtenir une activité équilibrée, il faut respecter les règles suivantes:

- Travailler très proprement
- Ebouillanter les casseroles et les ustensiles servant à la production de cultures avant de les utiliser
- Ne pas toucher les surfaces entrant en contact avec le petit-lait. Ne pas toucher le petit-lait avec les mains.
- Les cultures de petit-lait mûri doivent être fraîches ; une production quotidienne est recommandée.
- Avant leur utilisation, retirer la couche supérieure et bien remuer le tout avec une cuillère.

5.6 Contrôle de la culture

Avant chaque charge, il faut contrôler:

- l'apparence (couleur, odeur et goût)
- le degré d'acidité

Mesures à prendre en cas de problème d'acidification: Si en cas de production conforme, le degré d'acidité n'est pas atteint dans le temps désiré, il ne sert à rien de s'échiner! Dans une telle situation, il est recommandé de recommencer avec un petit-lait ou un petit-lait mûri provenant d'une autre fromagerie. Selon les circonstances, il peut être nécessaire de répéter cette mesure plusieurs jours de suite.

5.7 Rotation des cultures

Les cultures starter d'ALP-HARAS présentent en général une bonne activité d'acidification et une certaine résistance face aux problèmes d'acidification. Les CMB 105, 124 et 302 sont réputées particulièrement résistantes. Les cultures devraient être sélectionnées en fonction des spécificités de la fromagerie. Afin d'exclure autant que possible des problèmes d'acidification, il est recommandé de faire une rotation des cultures au sein de la fromagerie. Cette mesure est plus efficace si l'ensemble des cultures acidifiantes est substitué.

Il n'est pas rare que les problèmes d'acidification aillent de pair avec la saison froide et/ou un gros volume de production (fabrication en charges, spécialités). Une extension de la durée de production augmente la charge de polluants dans l'air (humidité de l'air / particules dans l'air / contamination de l'air). A la saison froide, les locaux de fabrication sont souvent humides et sèchent mal. En raison de cette humidité, l'air est davantage pollué par des phages et des germes, de sorte que les problèmes d'acidification risquent d'augmenter dans la production. Pour limiter ce risque, il faut veiller en particulier à:

- Aérer suffisamment les locaux, aussi en hiver (chauffer éventuellement le local de fabrication, éviter les courants d'air)
- Bien nettoyer/désinfecter les locaux entre les fabrications
- Eviter les aérosols
- Désinfecter les ustensiles avant leur utilisation (si possible par traitement thermique)
- Nettoyer fréquemment les locaux

Dans une production en charges, si des problèmes d'acidification apparaissent, il peut être nécessaire d'effectuer un nettoyage entre les charges..

7. Paramètres critiques de fabrication

7.1 Préparation du lait de cuve

La pré-maturation du lait de cuve influence le déroulement de l'acidification et l'égouttage du petit-lait du fromage. Si l'on applique une durée de pré-maturation trop courte, la formation du grain et l'acidification dans le fromage sont ralenties. Au pressage, la masse fromagère est compactée; une fermentation lactique qui se produit plus tardivement entraîne une accumulation de petit-lait dans les bords du fromage. La pâte se colore. Si le fromage s'acidifie trop rapidement, il perd davantage d'eau et en général davantage de calcium. La pâte du fromage devient plus dure et plus courte.

L'ajout de la culture d'exploitation au lait de chaudière se fait généralement au début du chauffage du lait. Pour améliorer la capacité d'acidification des bactéries lactiques, il est recommandé de chauffer le lait de chaudière avec ménagement et lentement. Maintenir la chaleur du lait de chaudière pendant 5 à 20 minutes renforce l'aptitude à l'acidification et la fromageabilité.

Si le lait est stocké pendant 12 à 18 heures au maximum, une température d'entreposage située entre 8 et 13°C est recommandée. Plus la température de stockage du lait est basse, plus la durée de pré-maturation sera longue.

La pré-maturation est spécifique à la sorte de fromage. En règle générale, les paramètres résumés dans le tableau 7 sont valables pour la pré-maturation du lait de chaudière.

Avec des cultures lyophilisées, il faut impérativement respecter les prescriptions du fabricant. Dans le cas du fromage à pâte mi-dure, il faut en général procéder à une pré-maturation pendant au moins une heure à la température d'emprésurage.

7.2 Suivi de la température

Le suivi de la température pendant la fabrication fromagère dépend de la sorte de fromage. Les températures dictées par le cahier des charges et les règlements spécifiques aux sortes laissent une certaine marge de manœuvre. Les cultures thermophiles de bactéries lactiques d'ALP-HARAS sont relativement tolérantes à la chaleur.

Dans le cas des cultures mésophiles monosouches ou multisouches, une température de chauffage du caillé supérieure à 40°C n'est pas adaptée pour une fermentation lactique optimale. Pour améliorer la fromageabilité du lait de cuve, les cultures mixtes suivantes sont appropriées à la fabrication de l'Emmentaler dans une quantité de 0,2 à 0,5‰: les CM 401 et 2020, la CMM 501 et la Lc 17.

Un chauffage du caillé lent et progressif permet aux bactéries lactiques de s'adapter aux températures élevées. Au-delà de 52°C, même les bactéries lactiques thermophiles commencent à disparaître, ce qui ralentit la fermentation lactique. Cet effet est encore accentué à une températures de chauffage >57°C. Dans ce domaine de température, un seul degré fait une grande différence!

Tab. 7: Paramètres d'acidification spécifiques à la sorte de fromage

Sorte de fromage	Quantité de culture	Durée de prématuration	Contrôle de l'acidification	Réductase
Emmentaler AOC	1.5-2.5 ‰	20-75 Minuten	2h: 9.5-11.5°SH	3 ¾ - 5 ¼ h
Gruyère AOC	0.8-1.2 ‰	10-40 Minuten	pH 2h: 6.30 ± 0.05 pH 4h: 6.05± 0.05	3 ½ - 4 ½ h
Sbrinz AOC	1.8-2.2 ‰	20-45 Minuten	2h: 9-11°SH	3 ¾ - 4 ¾ h
Tilsiter	0.8-1.5 ‰	30-50 Minuten	pH 2h: 6.05± 0.05	3 ½ - 4 ½ h
Appenzeller	0.8-1.5 ‰	30-50 Minuten	pH 2h: 5.95± 0.05	3 ½ - 4 ½ h

8. Résumé

Les problèmes d'acidification ont de nombreuses causes. Lors de la fabrication de fromage au lait cru en particulier, certains composants antimicrobiens naturels du lait peuvent jouer un rôle. Leur concentration varie selon le fourrage ou dépend de paramètres physiologiques de la vache. Les contaminations du lait par des antibiotiques sont toutefois plus importantes. Plus le nombre de fournisseurs est élevé, plus le risque qu'une fromagerie réceptionne du lait contenant des substances antibiotiques est important. Vu que les contrôles d'acidification usuels utilisés par les fromageries suisses ne sont pas reconnus officiellement comme tests de détection des antibiotiques par certains pays exportateurs, nous recommandons aux fabricants de soumettre systématiquement leur lait de chaudière à un test de détection d'antibiotiques reconnus internationalement. En plus des antibiotiques, les contaminations du lait par des produits de nettoyage ou de désinfection contenant des composés d'ammonium quaternaires (QAV) ou des produits de pré-trempe des trayons peuvent inhiber le développement des bactéries lactiques, raison pour laquelle ces produits ne doivent pas être utilisés sur des surfaces en contact avec le lait ou le fromage.

Une autre cause importante à l'origine des problèmes d'acidification sont les bactériophages. Les exploitations fabriquant en charges sont particulièrement touchées par ce type de problèmes. Parmi les mesures de prévention contre les phages, on trouve des recommandations pour l'aménagement des locaux, la séparation des locaux de certains processus, l'optimisation des processus de nettoyage (sans formation d'aérosols, nettoyage pas seulement alcalin) et une hygiène irréprochable lors de la fabrication des cultures. La crème de petit-lait peut être une source importante de phages, raison pour laquelle il est recommandé d'interrompre le cycle (réincorporation de la crème de petit-lait) une fois par semaine. En dernier lieu, il est important pour une bonne acidification que les processus soient appliqués de façon optimale, en particulier en ce qui concerne le suivi de la température dans la cuve et au pressage.

