

Les 7^{es} RENCONTRES DU FROMAGE FERMIER

Provence - Alpes - Côte d'Azur

Jeudi 11 octobre 2012

Carmejane

Le Chaffaut / Digne-les-Bains

Maîtrise de la croissance de *S. aureus* en caillé doux

• Emilien FATET (Actilait - Centre de Carmejane)



Actions de diffusion régionale des filières d'élevage
MAISON RÉGIONALE DE L'ÉLEVAGE PROVENCE-ALPES-CÔTE D'AZUR



MAITRISE DE LA CROISSANCE DE *Staphylococcus aureus* EN FABRICATION DE TYPE CAILLÉ DOUX

Région



Provence-Alpes-Côte d'Azur

Etude réalisée par ACTILAIT pour le compte de la MRE

Avec le soutien financier de la Région PACA et du FNADT
CIMA



CONTEXTE ET OBJECTIFS

- *Staphylococcus aureus* = 2^{ème} cause de toxi-infections alimentaires collectives déclarées en France. La première dans le domaine des produits laitiers.
- Malgré les travaux de recherche et les actions préventives mises en œuvre sur le terrain (détection des mammites, réforme d'animaux,...), les dépassements des seuils réglementaires en fromage fermier au lait cru sont encore courants.
- Sensibilité particulière des fabrications de type caillé doux : travail à plus de 30°C, pas ou peu d'utilisation de ferments, acidification lente,...
- Volonté des professionnels d'approfondir les connaissances en la matière pour :
 - Connaître précisément le comportement de *S. aureus* en fabrication de type caillé doux
 - Définir des leviers technologiques permettant de maîtriser le développement de *S. aureus* durant le process de fabrication



PROTOCOLE EXPERIMENTAL

ANNEE 1 (2011)

Suivi terrain d'un échantillon de fabrications de type caillé doux représentatives de la région

- Espèce laitière : 6 producteurs en chèvre (Banon) et 3 en Brebis (Tome d'Arles)
- Situation vis-à-vis de *S. aureus* (dépassement seuils réglementaires courants/rares)
- Techniques de fabrication



PROTOCOLE EXPERIMENTAL

ANNEE 1 (2011)

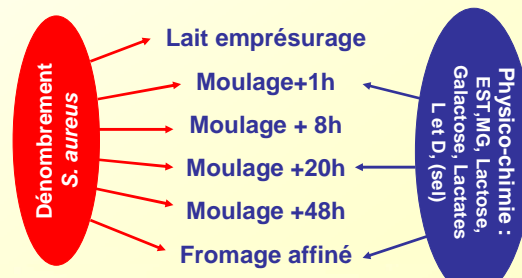
Pour chaque fabrication :

SUIVI TECHNOLOGIQUE

Enregistrement des paramètres de fabrication :

- Durées
- Températures
- Acidités dornic
- pH
- HR ...

SUIVI ANALYTIQUE





PROCOLE EXPERIMENTAL

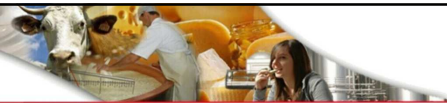
ANNEE 2 (2012)

Objectif 2012 : tester les leviers technologiques identifiés en 2011

- Conduite en parallèle de plusieurs fabrications à partir d'un même lait (contamination initiale identique)
- test de leviers technologiques identifiés en 2011
- Fabrications répétées sur plusieurs jours et plusieurs producteurs
- Suivi technologique et analytique : idem 2011



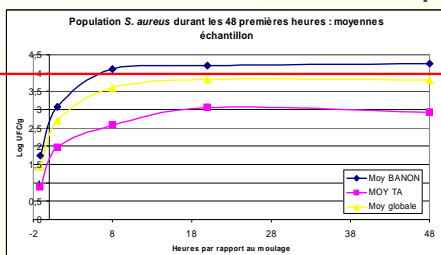
RESULTATS 2011



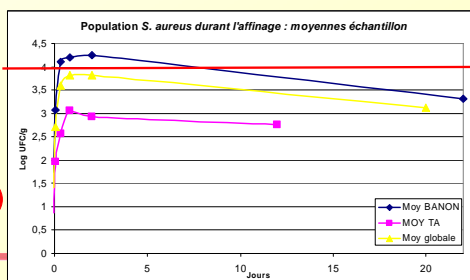
RESULTATS 2011

1- SITUATION VIS-À-VIS DE LA REGLEMENTATION

Le règlement 2073/2005 impose de réaliser le contrôle du critère *S. aureus* au pic de contamination



Seuil réglementaire $m = 10\ 000$ UFC/g

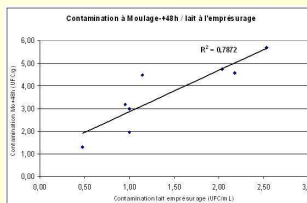
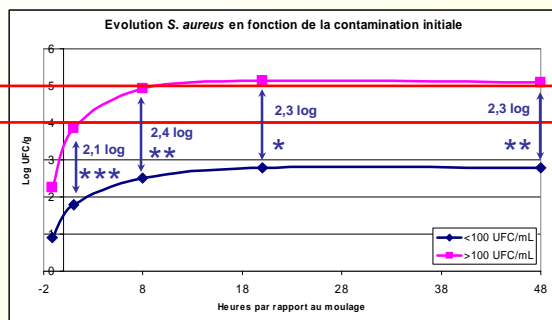


Le pic de contamination en caillé doux intervient entre 8 h et 48h après le moulage



RESULTATS 2011

2- IMPORTANCE DE LA CONTAMINATION INITIALE

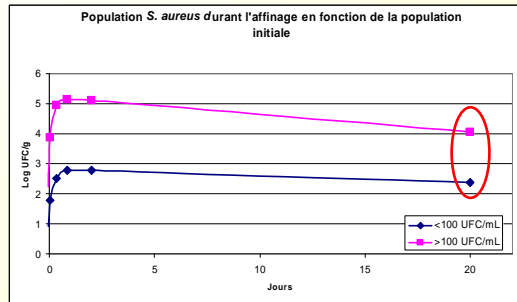


Nombre de *S. aureus* significativement plus élevé à tous les stades de l'égouttage dans les fromages fabriqués à partir d'un lait contenant plus de 100 Staph/mL



RESULTATS 2011

2- IMPORTANCE DE LA CONTAMINATION INITIALE

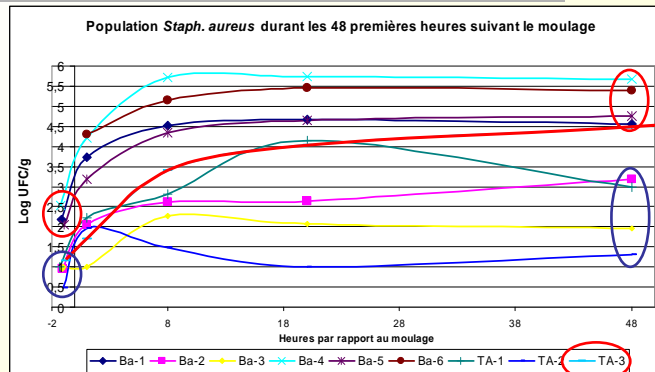


Bien que la différence ne soit plus significative, le nombre de *S. aureus* dans les fromages affinés fabriqués à partir de lait « fortement contaminé » est en moyenne plus élevé (+1,6 log)



RESULTATS 2011

2- IMPORTANCE DE LA CONTAMINATION INITIALE



Cas particulier d'un producteur (TA-3) : malgré une contamination initiale faible (14 UFC/mL), le nombre de *S. aureus* à 48 h est > 10 000 UFC/g



RESULTATS 2011

2- IMPORTANCE DE LA CONTAMINATION INITIALE

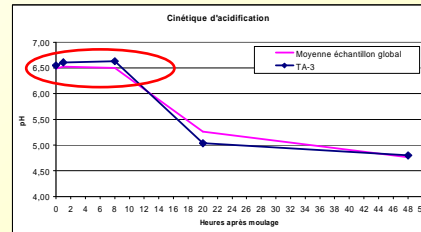
Cas particulier du producteur TA-3 : éléments d'explication

1) Unique producteur de l'échantillon à travailler à partir de **lait de report** ⇒ phase de latence des *S. aureus* réduite

2) Démarrage d'acidification le plus lent de l'échantillon (pH=6,63 à 8h)

3) Fromages plutôt humides à 1h et 20h

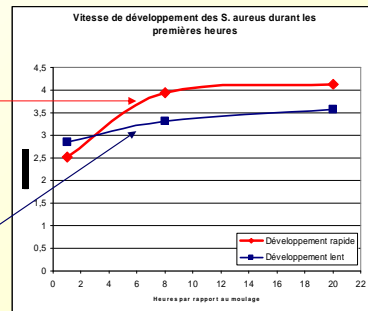
| | TA-3 | Moyenne |
|---------------|------|---------|
| H/ESD Mo+ 1h | 5,34 | 5,20 |
| H/ESD Mo+ 20h | 3,51 | 3,26 |



RESULTATS 2011

3- VITESSE DE DEVELOPPEMENT DES *S. aureus* ET LEVIERS TECHNOLOGIQUES

| | Contamination initiale (UFC/mL) | GT Empr. (UFC/mL) | Flore acidifiante empr. (UFC/mL) | Temps de génération des <i>S. aureus</i> entre 1 et 8h (en h) |
|--------|---------------------------------|-------------------|----------------------------------|---|
| Ba-1 | 150 | 230 000 | 250 000 | 2,7 |
| Ba-2 | <10 | 43 000 | 300 | 3,7 |
| Ba-3 * | <10 | 140 000 | 78 000 | 1,6 |
| Ba-4 | 340 | 15 000 | 4 500 | 1,4 |
| Ba-5 | 110 | 44 000 | 16 000 | 1,8 |
| Ba-6 * | <100 | - | - | 2,5 |
| TA-1 | 10 | 320 000 | 7 900 | 3,6 |
| TA-2 | 3 | 3400 | 400 | Pas de développement de <i>S. aureus</i> |
| TA-3 | 14 | 25 000 | 7 800 | 1,2 |



2 groupes se distinguent :

-Fromages permettant un développement rapide de *S. aureus* (temps de génération <2h)

-Fromages ne permettant qu'un développement lent de *S. aureus* (temps de génération >2h)

La vitesse de multiplication n'a pas de lien avec le niveau de contamination initiale



RESULTATS 2011

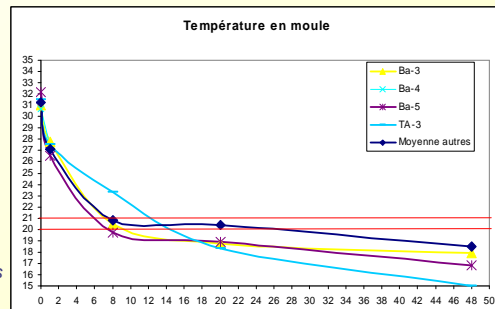
3- VITESSE DE DEVELOPPEMENT DES *S. aureus* ET LEVIERS TECHNOLOGIQUES

Eléments d'explication par les paramètres technologiques

1) Gestion de la température

Les fromages où l'on observe un développement rapide de *S. aureus* subissent un refroidissement en moules plus rapide et/ou plus accentué que les autres (différence non significative)

⇒ Perturbation probable de la flore lactique, des levures ⇒ Faible concurrence face aux *S. aureus*



RESULTATS 2011

3- VITESSE DE DEVELOPPEMENT DES *S. aureus* ET LEVIERS TECHNOLOGIQUES

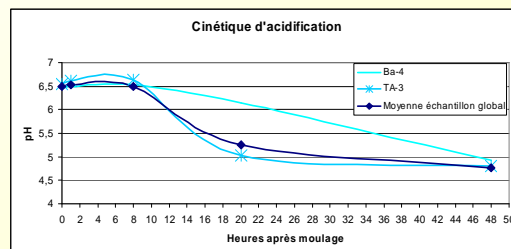
Eléments d'explication par les paramètres technologiques

2) Gestion de l'acidification

Pour 2 des fabrications où l'on a observé un développement rapide de *S. aureus*, la cinétique d'acidification est en cause :

- Ba-4 : cinétique d'acidification extrêmement lente
- TA-3 : démarrage de l'acidification tardif

⇒ Consommation trop lente des sucres qui avantage *S. aureus*

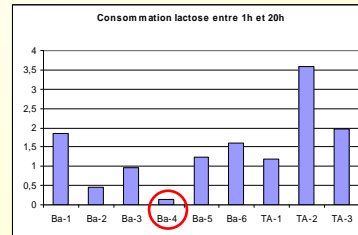
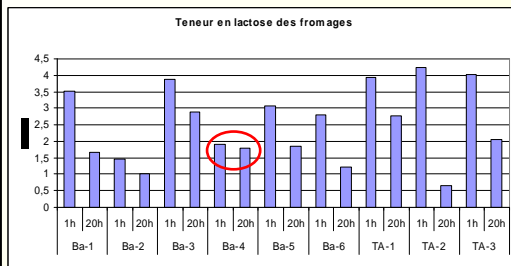




RESULTATS 2011

4- INDICATEURS PHYSICO-CHIMIQUES

1) Consommation des sucres



La teneur en lactose des fromages et sa vitesse de consommation dans les premières heures ne semblent pas discriminer les fabrications où l'on observe un développement rapide de *S. aureus*.

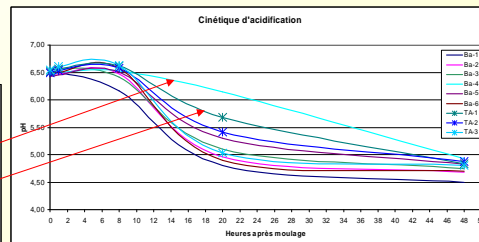
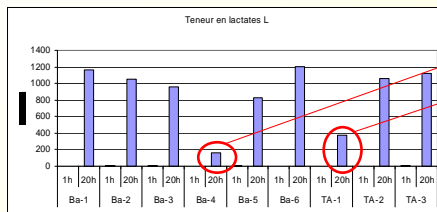
Ces critères peuvent cependant permettre d'expliquer des cas particuliers
ex : Ba-4 (cf cinétique d'acidification)



RESULTATS 2011

4- INDICATEURS PHYSICO-CHIMIQUES

2) Production de lactates



- L'analyse des lactates à 1h n'est pas un critère pertinent en fabrication de type caillé doux
- Une teneur en lactates L à Moulage +20h < 800 mg/100g témoigne d'une vitesse d'acidification trop lente pouvant favoriser la croissance de *S. aureus*



RESULTATS 2011

CONCLUSIONS

Premier apport de cette étude = approfondissement des connaissances sur la technologie caillé doux

→ Acquisition de références physico-chimiques notamment sur l'acidification, la consommation des sucres, la production de lactates,...

→ Détermination du pic de contamination en *S. aureus* :

8 heures à 48 heures après moulage



RESULTATS 2011

CONCLUSIONS

Facteurs de maîtrise de la contamination des fromages en *S. aureus*



Contamination initiale du lait



Report du lait



Cinétique de refroidissement des fromages



Cinétique d'acidification



PROTOCOLE EXPERIMENTAL 2012



L'institut technique
du lait et des produits laitiers

PROTOCOLE EXPERIMENTAL 2012

1) Choix des professionnels

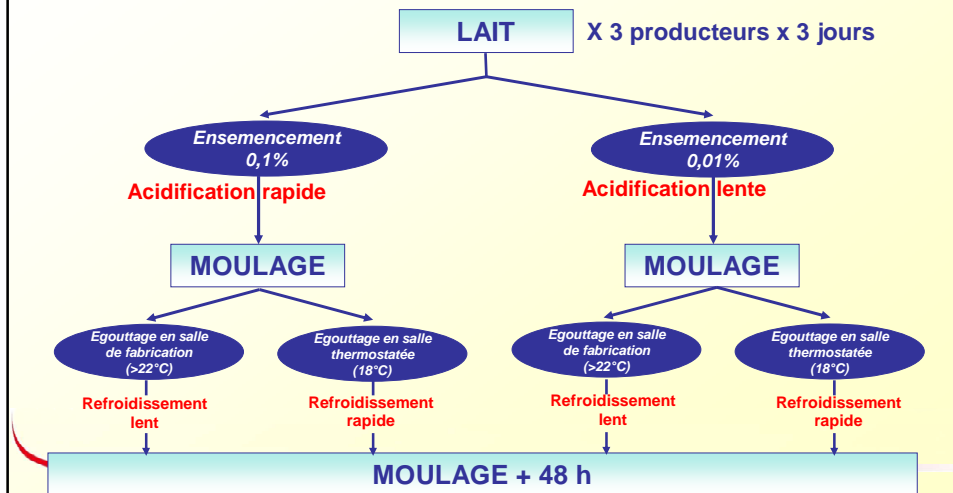
Facteurs de maîtrise de *S. aureus* à tester en 2012

- Contamination initiale du lait
⇒ déjà largement connu : inutile de tester à nouveau ce levier
- Report du lait
⇒ non pertinent : message des structures professionnelles et techniques = « fabriquer des caillés doux à partir de lait FRAIS »
- Cinétique de refroidissement des fromages
⇒ piste intéressante : à tester
- Cinétique d'acidification
⇒ piste intéressante : à tester



PROTOCOLE EXPERIMENTAL 2012

2) Plan d'expérience



PROTOCOLE EXPERIMENTAL 2012

2) Suivi analytique

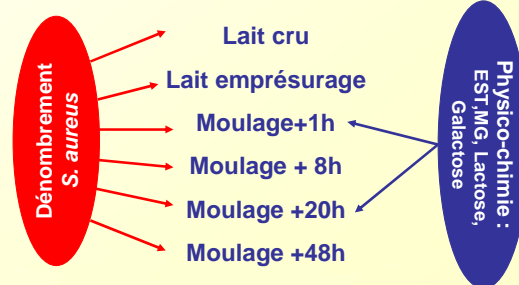
Pour chaque fabrication :

SUIVI TECHNOLOGIQUE

Enregistrement des paramètres de fabrication :

- Durées
- Températures
- Acidités dornic
- pH
- HR ...

SUIVI ANALYTIQUE





RESULTATS 2012



RESULTATS 2012

1) Caractéristiques physico-chimiques des fromages fabriqués

| | Fabrications essais 2012 (moyennes) | | | | Résultats terrains 2011 | | |
|---------------------------|-------------------------------------|--------|--------|--------|-------------------------|--------|---------|
| | AL RL | AL RR | AR RL | AR RR | Min | Max | Moyenne |
| pH Mo+1h | 6,57 | 6,58 | 6,55 | 6,55 | 6,45 | 6,61 | 6,53 |
| EST Mo+1h (g/100g) | 28,23 | 28,01 | 28,14 | 28,77 | 20,16 | 27,18 | 24,17 |
| MG Mo+1h (g/100g) | 9,78 | 9,83 | 9,64 | 10,06 | 7,00 | 11,50 | 9,56 |
| HFD Mo+1h | 79,61% | 79,89% | 79,55% | 79,22% | 81,82% | 85,85% | 83,84% |
| H/ESD Mo+1h | 4,01 | 4,06 | 3,93 | 3,85 | 4,50 | 6,07 | 5,23 |
| Lactose Mo+1h (g/100g) | 3,58 | 3,55 | 3,13 | 3,08 | 1,47 | 4,23 | 3,37 |
| Galactose Mo+1h (g/100g) | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,02 | 0,00 | 0,02 | 0,01 |
| pH Mo+20h | 4,96 | 5,36 | 4,89 | 5,02 | 4,80 | 5,68 | 5,15 |
| EST Mo+20h (g/100g) | 45,94 | 43,63 | 45,70 | 40,52 | 33,03 | 43,81 | 37,44 |
| MG Mo+20h (g/100g) | 22,76 | 20,97 | 22,24 | 20,53 | 15,00 | 24,00 | 17,66 |
| G/S Mo+20h | 0,49 | 0,48 | 0,48 | 0,50 | 0,42 | 0,55 | 0,47 |
| HFD Mo+20h | 69,96% | 71,31% | 69,78% | 74,89% | 73,38% | 76,79% | 75,94% |
| H/ESD Mo+20h | 2,34 | 2,51 | 2,32 | 3,03 | 2,76 | 3,71 | 3,18 |
| Lactose Mo+20h (g/100g) | 0,89 | 1,52 | 0,73 | 1,27 | 0,85 | 2,89 | 1,76 |
| Galactose Mo+20h (g/100g) | 0,03 | 0,04 | 0,06 | 0,05 | 0,00 | 0,04 | 0,02 |

→ Fromages essais globalement plus secs que fromages analysés en 2011
(travail avec une dose de ferment élevée pour acidification rapide ⇒ nécessité de plus égoutter pour ne pas avoir des acidif excessives)



RESULTATS 2012

2) Caractéristiques microbiologiques des laits de départ

Composition microbiologique des laits crus (en UFC/mL)

| Producteur | Jour | Flore Totale | Flore Acidifiante Mésophile | Staph. à coag+ |
|------------|------|--------------|-----------------------------|----------------|
| C1 | J1 | 26 000 | 2 500 | 760 |
| | J2 | 13 000 | 3 800 | 850 |
| | J3 | 50 000 | 4 300 | 610 |
| C2 | J1 | 5 000 | 1 000 | 25 |
| | J2 | 9 000 | 1 600 | 65 |
| | J3 | 19 000 | 1 200 | 170 |
| B | J1 | 21 000 | 4 900 | 7 |
| | J2 | 7 700 | 390 | 15 |
| | J3 | 5 500 | 290 | 1 |

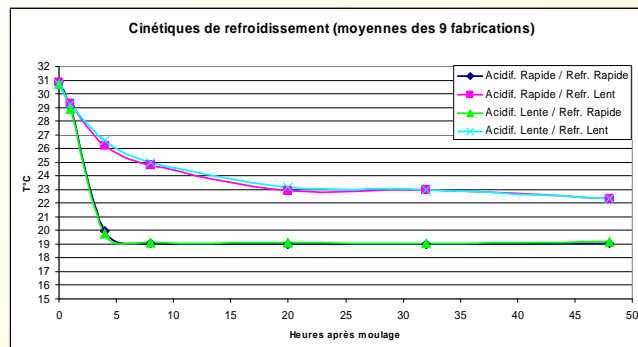
→ 3 situations bien distinctes vis-à-vis des *staph.*

→ une observation des résultats producteur par producteur s'impose



RESULTATS 2012

3) Cinétiques de refroidissement des fromages

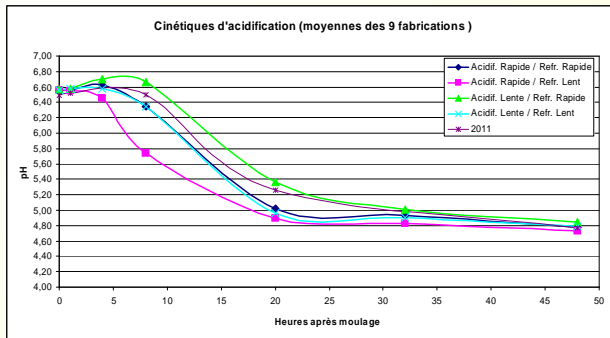


→ Différentiel de températures significatif entre « refroidissement rapide » et « refroidissement lent »



RESULTATS 2012

4) Cinétiques d'acidification des fromages



→ Impact du refroidissement des fromages sur la cinétique d'acidification

ex : « Acidif Rapide/Refr Rapide » et « Acidif Lente/Refr Lent » :
⇒ cinétiques d'acidif identiques alors que dose de ferment x10

→ Pour une même cinétique de refroidissement : la dose de ferment a bien permis de créer un différentiel de vitesse d'acidification

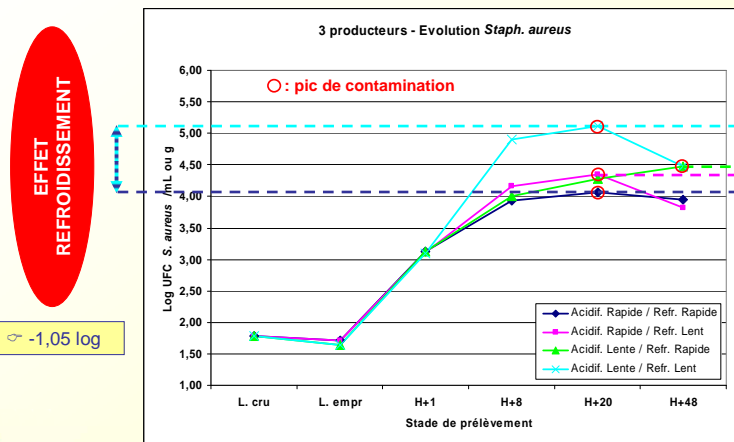
ex : AR/RR (—) et AL/RR (—)
AR/RL (—) et AL/RL (—)

→ Pour mesurer l'effet strict de la cinétique de refroidissement, il faudra comparer « Acidif Rapide / Refr. Rapide » (—) et « Acidif Lente/Refr Lent » (—)



RESULTATS 2012

5) Evolution des Staph. aureus



EFFET
REFROIDISSEMENT

○ -1,05 log

EFFET
ACIDIFICATION

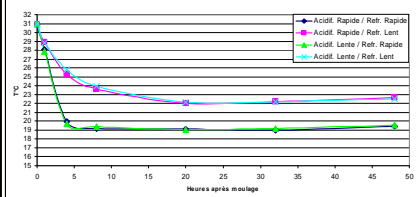
○ -0,41 log avec refr. Rapide
○ -0,76 log avec refr. lent



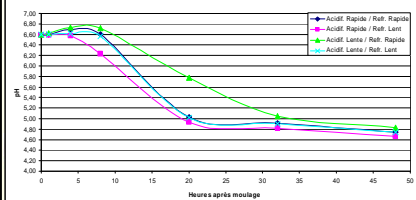
RESULTATS 2012

6) Résultats producteur par producteur

Producteur C1 - Cinétique de refroidissement (moyenne des 3 répétitions)

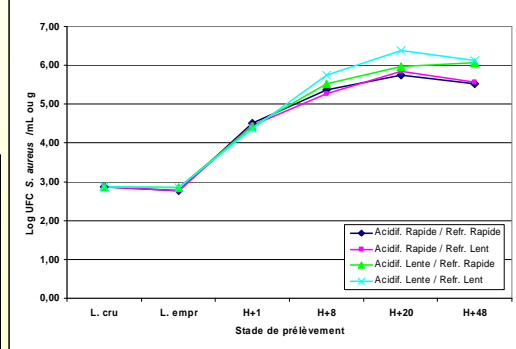


Producteur C1- cinétique d'acidification (moyenne des 3 répétitions)



Cas du producteur C1

Producteur C1 - Evolution *Staph. aureus* (moyenne des 3 répétitions)



RESULTATS 2012

6) Résultats producteur par producteur

Cas du producteur C1

Lait fortement contaminé
en *S. aureus* :
500 – 1000 UFC/mL



Quels que soient les paramètres
d'acidification ou de refroidissement, la
contamination des fromages dépasse le
seuil M= 100 000 *Staph*/mL



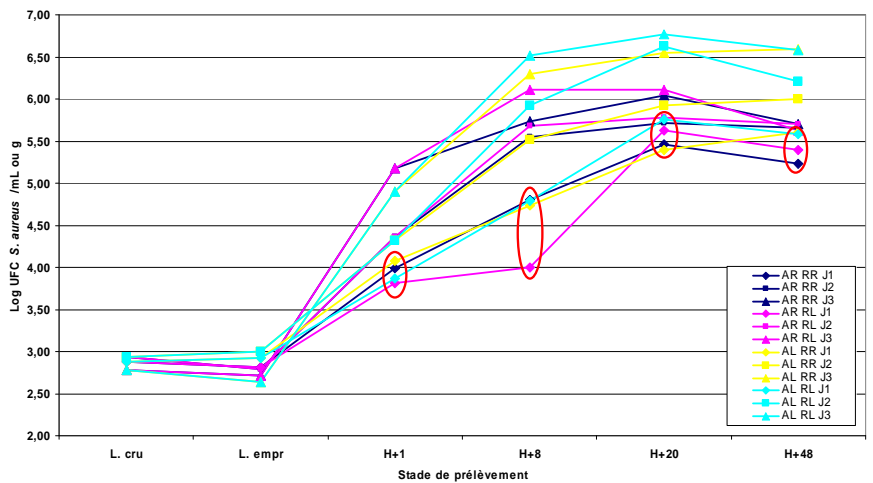
Effets de l'acidification et du refroidissement visibles, mais
insuffisants pour rétablir la situation en cas de contamination
importante



Effet du refroidissement du premier jour de fabrication



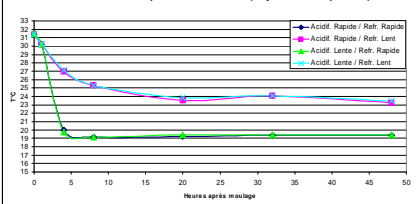
Producteur C1 - Evolution des Staph.aureus



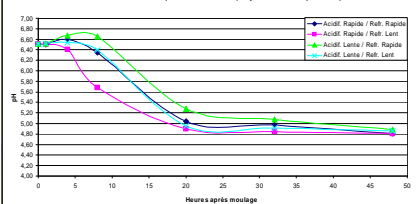
RESULTATS 2012

6) Résultats producteur par producteur

Producteur C2 - Cinétique de refroidissement (moyenne des 3 répétitions)

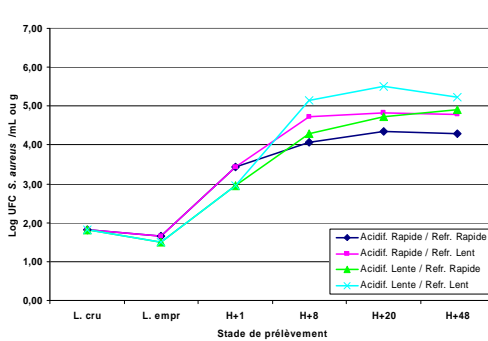


Producteur C2- cinétique d'acidification (moyenne des 3 répétitions)



Cas du producteur C2

Producteur C2 - Evolution Staph. aureus (moyenne des 3 répétitions)

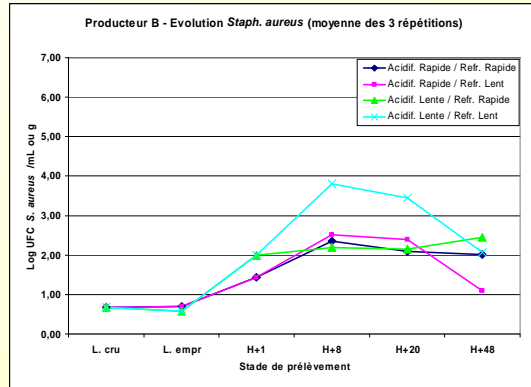
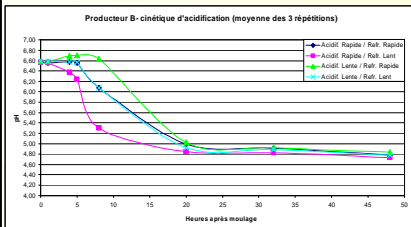
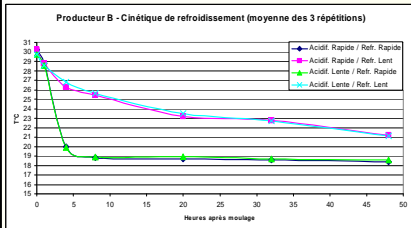




RESULTATS 2012

6) Résultats producteur par producteur

Cas du producteur B



RESULTATS 2012

6) Résultats producteur par producteur

Cas du producteur B

Lait très faiblement
contaminé
< 20 UFC/mL



Produits systématiquement
conformes (seule une fabrication
AL RL > 10 000 UFC/mL)



La combinaison Acidif Rapide/Refr. Rapide permet d'obtenir les
meilleurs résultats



RESULTATS 2012

7) Conclusions... en attendant l'analyse statistique

- ⇒ Le niveau de contamination initiale du lait reste de loin le critère le plus déterminant du niveau de contamination des fromages
- ⇒ Les cinétiques d'acidification et de refroidissement des fromages auraient effectivement un impact sur la multiplication de *S. aureus* en fabrication de type caillé doux, et donc sur le niveau de contamination des produits.
- ⇒ Concilier une acidification et un refroidissement rapides des fromages permettraient d'obtenir les meilleurs résultats
- ⇒ Reste à évaluer l'impact de tels paramètres de fabrication sur la qualité des fromages