



# Evolution de *Listeria monocytogenes* dans les fromages de technologie de type Cantal durant la fabrication, l'affinage et la phase de conservation sous emballage

AOP Cantal, AOP Salers et AOP Laguiole

Chatelard C., Pelissier F., Chanal J., Gay-Perret P., Montel M.C., Hulin S.





## Evolution de la législation REGLEMENT EUROPEEN 2073/2005

### Pour les denrées prêtes à être consommées

- ❑ Produits qui ne permettent pas la croissance de *L. monocytogenes*



Limite de 100 ufc/g

- ❑ Produits qui permettent la croissance de *L. monocytogenes*



Absence dans 25g  
en sortie  
d'établissement de  
fabrication



Limite de 100 ufc/g  
en fin de durée de vie



Le fabricant doit démontrer que le produit respectera cette limite jusqu'à la fin de sa durée de vie.

→ Fixation de valeurs intermédiaires, durant le procédé, garantissant le non dépassement de cette limite.

Filières AOP Cantal,  
Salers et Laguiole



# OBJECTIFS



## Objectif générale de l'étude

Fournir des données scientifiques pour prédire le comportement de *L. monocytogenes* dans ces fromages de la fabrication jusqu'à la consommation, en prenant en compte la variabilité des productions et les différentes conditions de vie des produits



Réalisation de 'Challenge-tests'  
= suivi du pathogène dans des fromages de type Cantal artificiellement contaminés

**Objectif** : Déterminer les phases de croissance et de décroissance du pathogène (taux de (dé)croissance) durant toute la durée de vie des produits.

**Remarque** : Les conditions expérimentales (recommandations Afssa) 'maximisent' le risque :  
- niveaux de contamination élevés (> seuil de détection de la méthode)  
- cocktail de 5 souches, physiologiquement 'actives' (préalablement cultivées au laboratoire)

→ Niveau de contamination Challenge-tests > niveau 'terrain' (souvent < 10 ufc/g)



## PARTIE 1

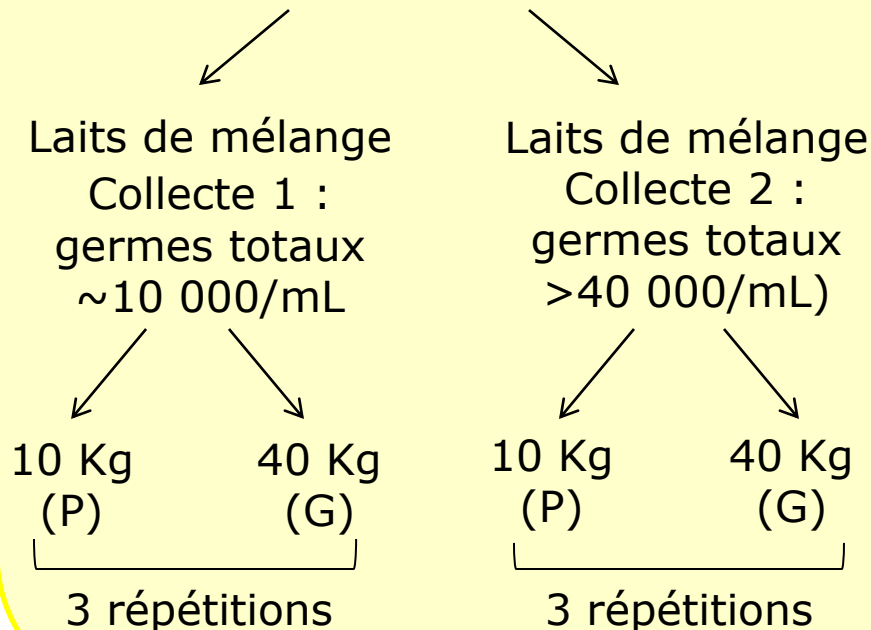
Evolution de *L. monocytogenes* dans les fromages artificiellement contaminés, durant la fabrication et l'affinage

# Protocole : Challenge-tests



## 2 types de contaminations

A- Fromages de type  
Cantal au lait cru  
contaminés dans le lait  
(5 ufc/mL)



B- Cantal au lait pasteurisé  
contaminés en surface en  
entrée cave  
(~50 ufc/g)

↓  
Cantal de 40 Kg provenant  
de 3 entreprises

# Protocole : Suivi au cours de l'affinage



3 7 15 30 45 60 90 120 180 210 240 360 jrs

A- Cantal au lait cru,  
contaminés dans le lait

B- Cantal au lait  
pasteurisé, contaminés  
en surface

Pâte  
→ pH,  $a_w$ , ES, MG,  
NaCl

Pâte  
→ L-lactate et acides  
gras volatiles

Pâte  
→ *L. monocytogenes*

Croûte  
→ *L. monocytogenes*

Croûte  
→ pH,  $a_w$



# Résultats

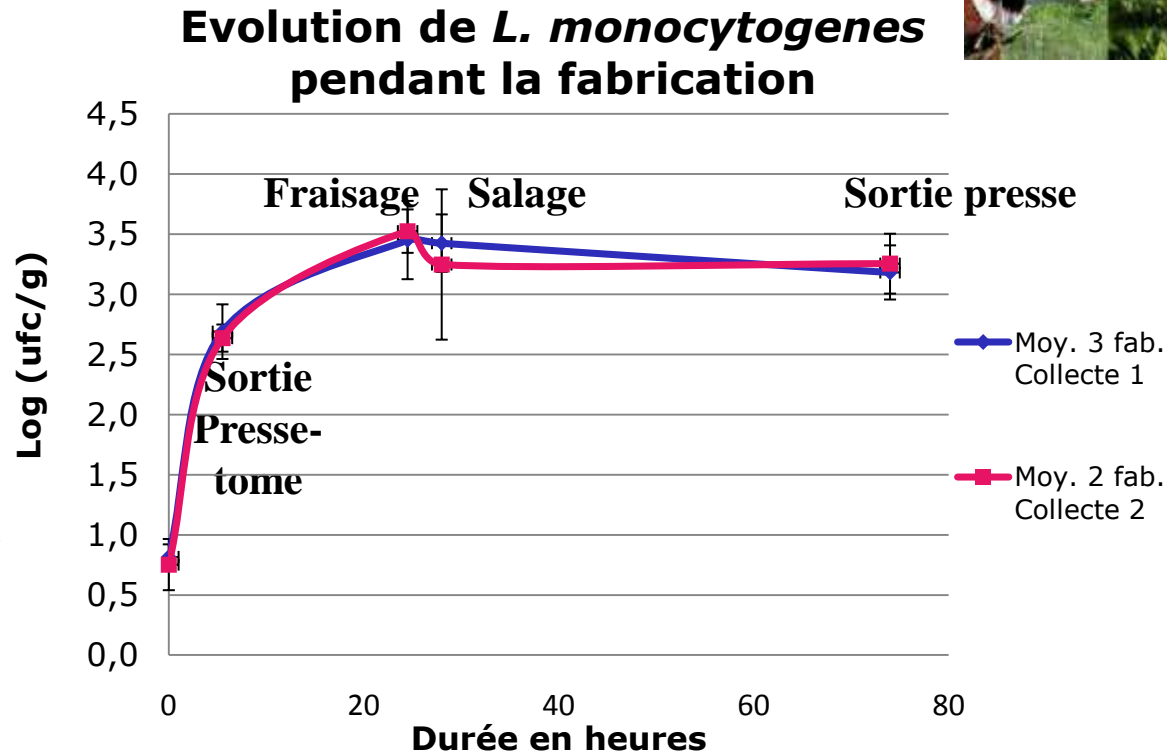
Fromages de technologie type  
Cantal, au lait cru, contaminés  
dans le lait



# Résultats : fabrication



Log (ufc/g)	ufc/g
4	10000
3	1000
2	100
1	10

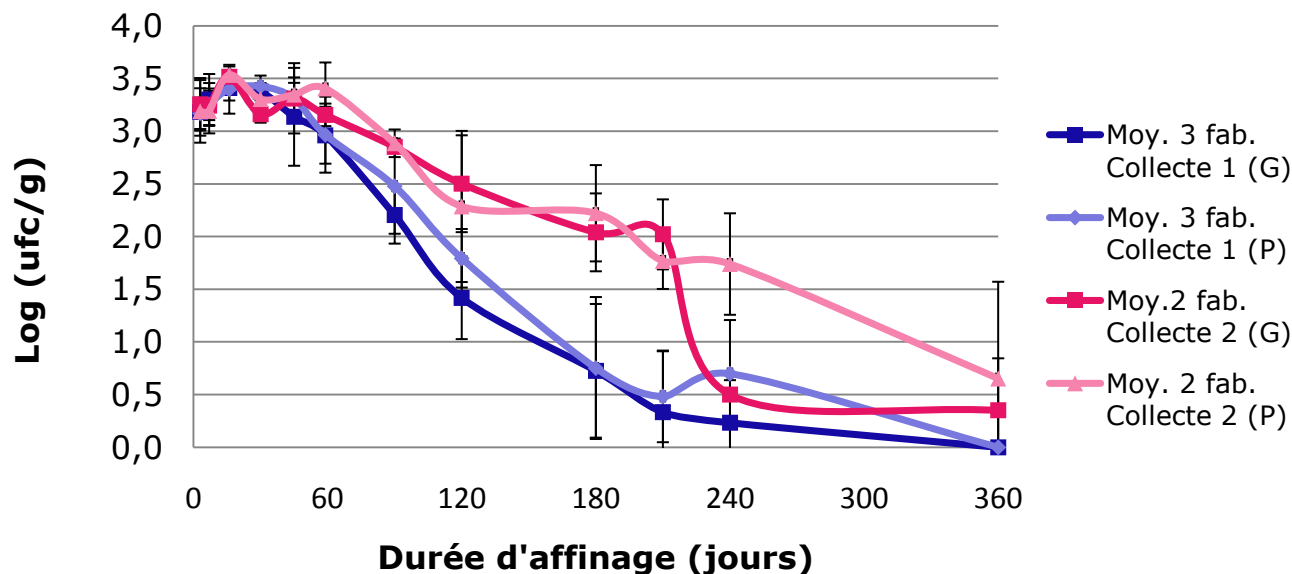


- ✓ Augmentation du niveau en *L. monocytogenes* dans les 1ères étapes de la fabrication :
  - phénomène de concentration (x10) lors du passage du lait au caillé
  - croissance jusqu'au fraisage de la tome (x20 à x120, en 24h)
- ✓ Puis arrêt de la croissance : fraisage + maturation au sel
- ✓ Bonne reproductibilité entre les fabrications et évolution similaire avec des laits issus de collectes différentes.

# Résultats (pâte) : affinage



## Evolution de *L. monocytogenes* dans la pâte au cours de l'affinage

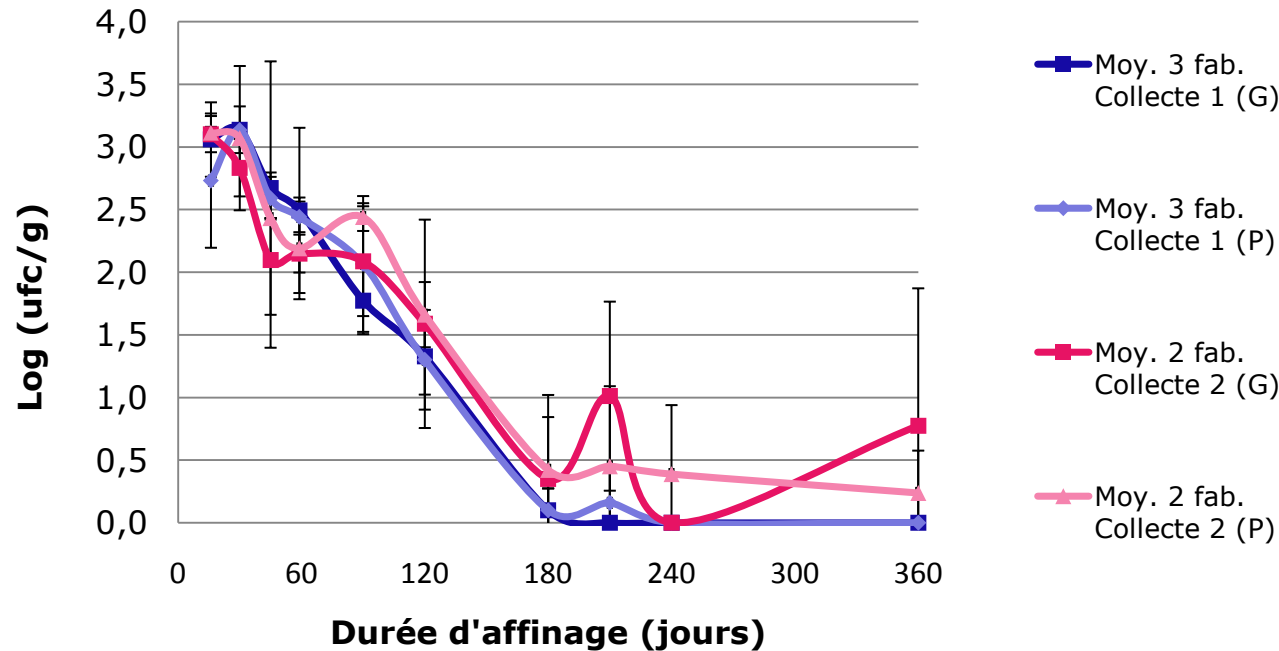


- ✓ Globalement, évolution similaire dans la pâte des différents fromages :
  - augmentation faible les 15 premiers jours
  - décroissance importante, à partir de 30 ou 60 jours, qui se poursuit tout au long de l'affinage
- ✓ Vitesses de décroissance différentes entre les fabrications et les laits avec différents niveaux de germes
- ✓ Pas de différence significative entre les 2 formats de fromages

# Résultats (croûte): affinage



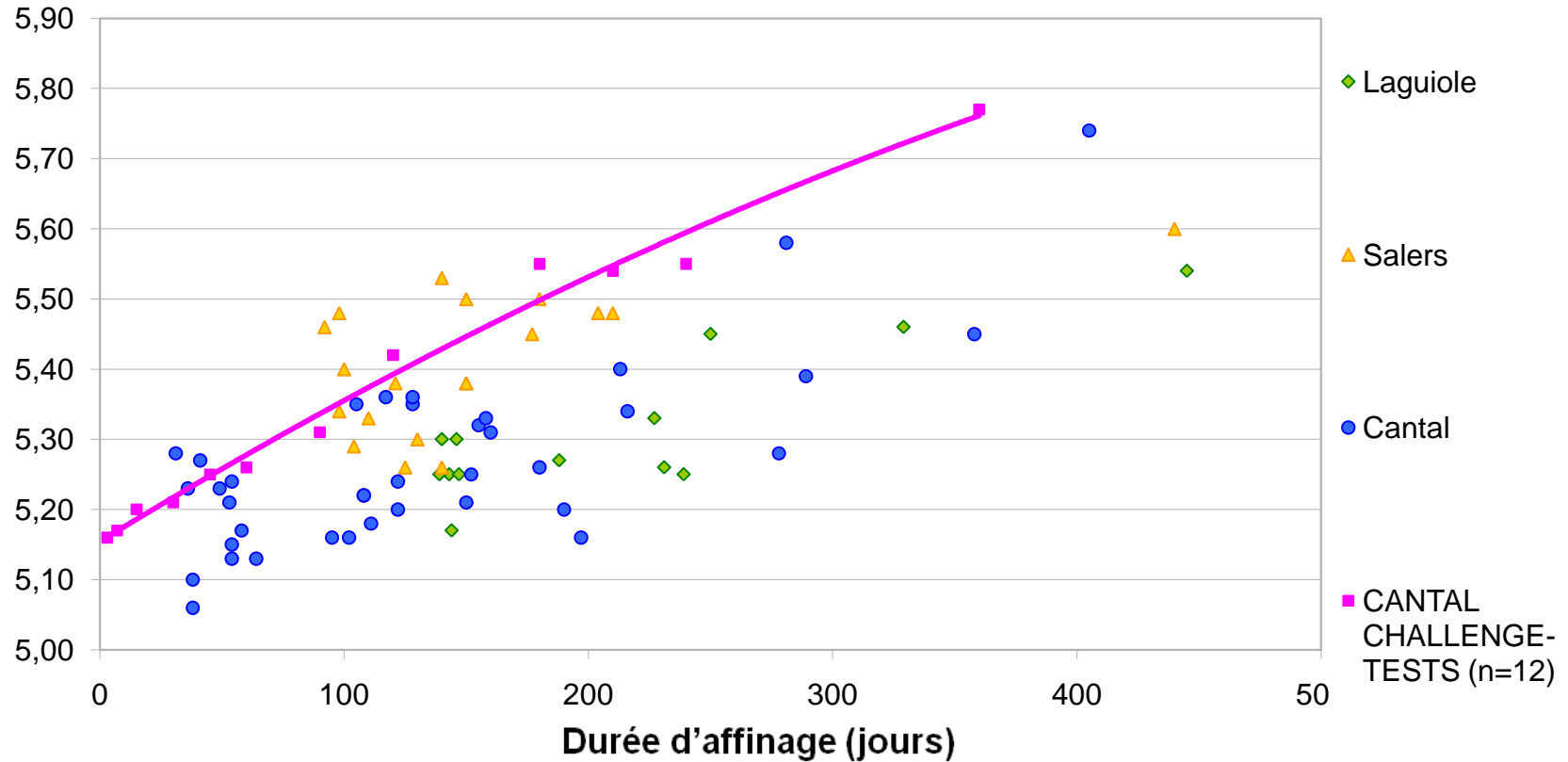
## Evolution de *L. monocytogenes* sur la croûte au cours de l'affinage



- ✓ Forte décroissance de *L. monocytogenes* dès 30 jours, plus rapide qu'en pâte
- ✓ Pas de différence significative entre les 2 formats de fromages, ni entre les laits de collectes différentes



## pH de la pâte

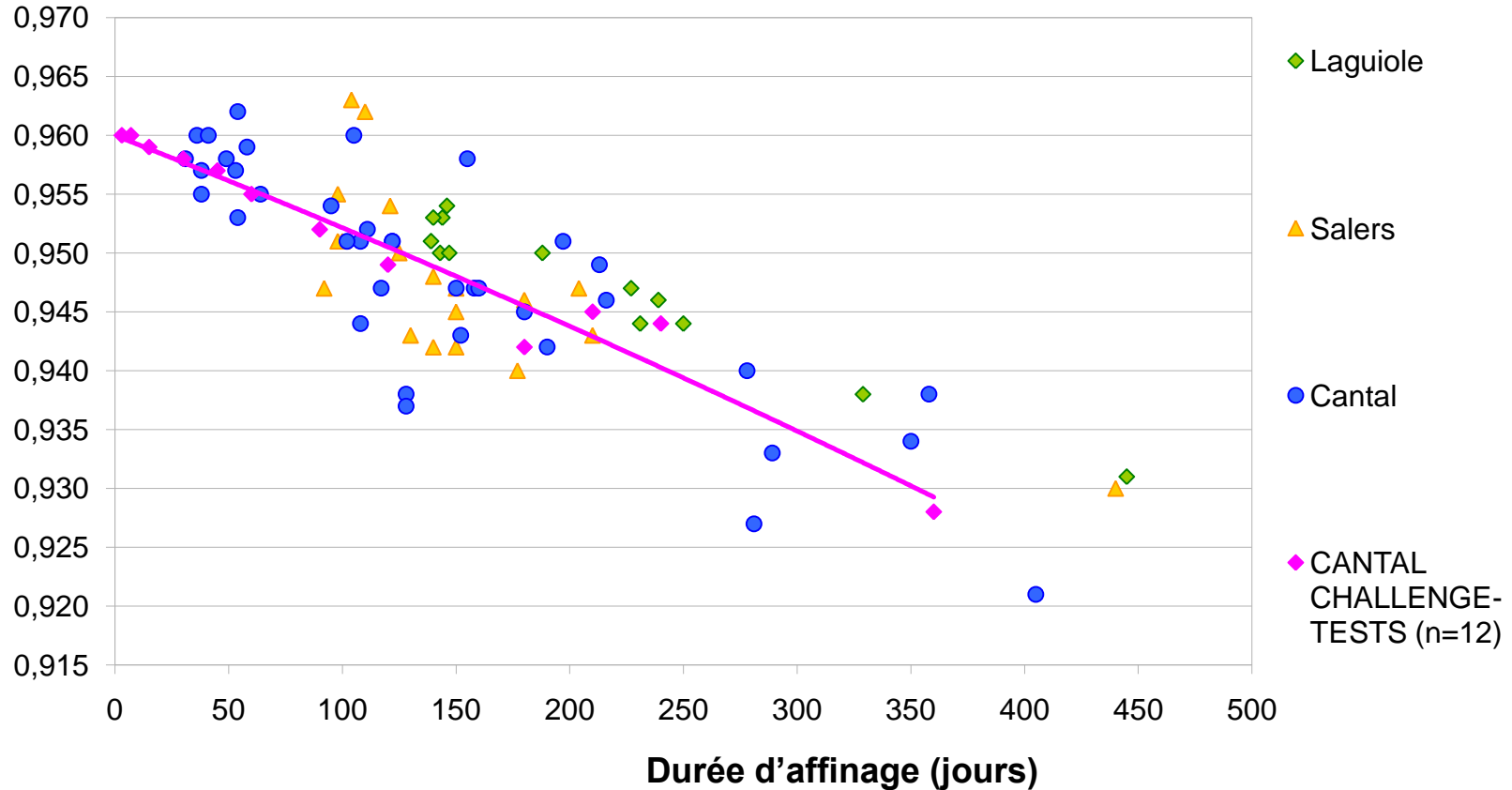


**pH de la pâte des Cantal des Challenge-tests** : valeurs moyennes de la filière Salers, valeurs hautes des fromages Cantal et Laguiole.

# Evolution des paramètres physico-chimiques et comparaison aux valeurs de terrain



## $a_w$ de la pâte



$a_w$  de la pâte des Cantal des Challenge-tests : valeurs moyennes des fromages des 3 filières

# Evolution des paramètres physico-chimiques lors de l'affinage



Valeurs 'limites de croissance' connues pour *L. monocytogenes* :

- pH  $\leq$  4,4
- $a_w \leq$  0,92
- pH  $\leq$  5,0 **et**  $a_w \leq$  0,94



Aliments considérés comme « ne permettant pas la croissance »

	Pâte		Croûte	
	Entrée cave	J360	Entrée cave	J360
<b>pH</b>	5,16 ( $\pm$ 0,03)	5,77 ( $\pm$ 0,15)	5,89 ( $\pm$ 0,19)	8,10 ( $\pm$ 0,16)
<b><math>a_w</math></b>	0,960 ( $\pm$ 0,001)	0,928 ( $\pm$ 0,006)	0,962 ( $\pm$ 0,004)	0,928 ( $\pm$ 0,010)
<b>G/S</b>	0,48 ( $\pm$ 0,01)	0,47 ( $\pm$ 0,01)	/	/
<b>NaCl</b>	1,92 ( $\pm$ 0,10)	2,42 ( $\pm$ 0,13)	/	/



pH et  $a_w$  > valeurs critiques



Ces paramètres, seuls, n'expliquent pas la décroissance

→ Nécessité de combiner de nombreux paramètres (physico-chimiques, biochimiques (acides), microbiologiques) pour tenter d'expliquer la décroissance.

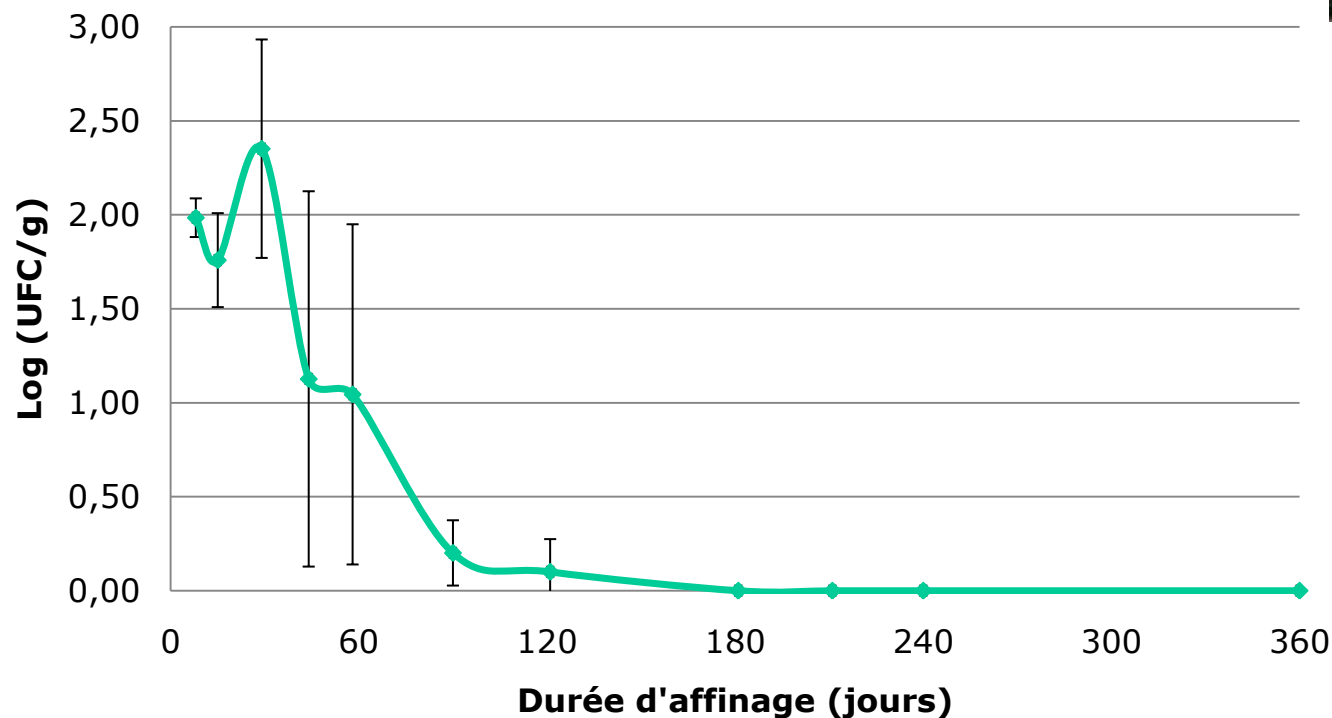


# Résultats

Fromages Cantal, au lait  
pasteurisé, contaminés en surface



# *L. monocytogenes* sur la croûte des Cantal contaminés en surface



- ✓ Croissance modérée à 30 jours d'affinage
- ✓ Puis forte décroissance, 'relativement rapide', de 30 à 180 jours d'affinage → décroissance plus rapide que sur la croûte des Cantal contaminés en lait
- ✓ Absence de *L. mono* obtenue entre 120 et 210 jours



## PARTIE 2

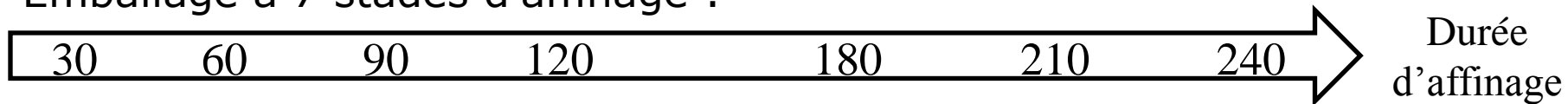
Evolution de *L. monocytogenes* dans les fromages artificiellement contaminés, au cours de la phase de conservation sous emballage

# Protocole : Suivi pendant la conservation sous emballage



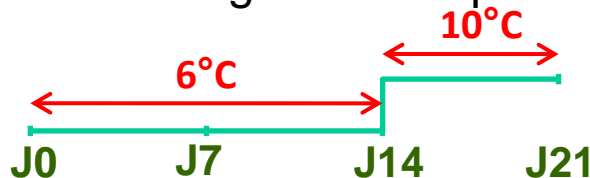
➤ 3 fabrications au lait cru, contaminées dans le lait à 5 ufc/mL (une seule collecte de lait, germes tot. ~30000 ufc/mL)

➤ Emballage à 7 stades d'affinage :

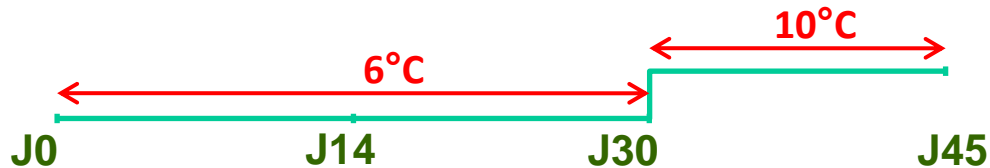


➤ 3 profils d'emballage testés :

- **Profil 1 « en frais »** : portions de ~300g sous film plastique → DLUO 21 jours



- **Profil 2 « sous-vide »** : portions de ~300g sous vide (PA/PE) → DLUO 45 jours



- **Profil 3 « à la coupe »** : 1/8<sup>ème</sup> de fourme sous film plastique (pâte) + papier kraft → DLUO 45 jours



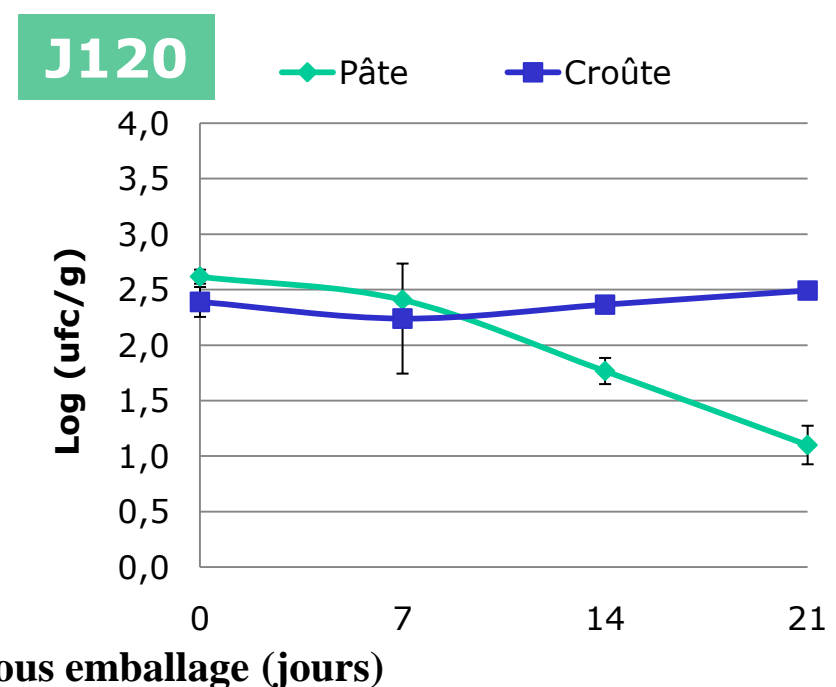
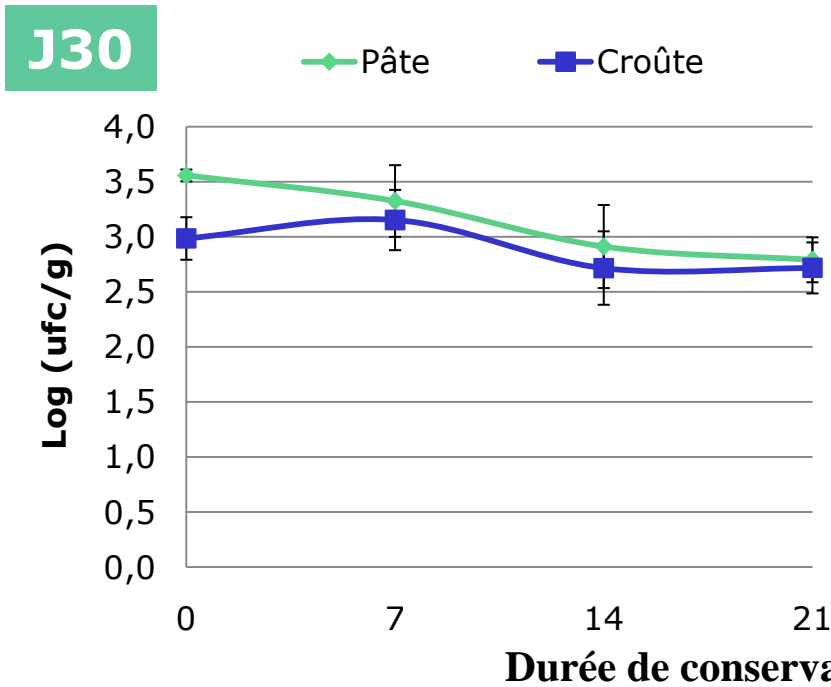
# Résultats : profil 1 « en frais »



- Evolution de *L. monocytogenes* durant la conservation en frais emballé (21 jours)

Type d'emballage	Pâte / Croûte	J30		J60		J90		J120	
		Evolution	$\Delta \log^*$	Evolution	$\Delta \log^*$	Evolution	$\Delta \log^*$	Evolution	$\Delta \log^*$
En frais	P	↘	<b>-0,8</b>	↘	<b>-0,7</b>	↘	<b>-1,6</b>	↘	<b>-1,5</b>
	C	—	-0,3	—	+0,3	—	-0,2	—	+0,1

\*  $\Delta \log$  = différence de niveaux en *L. mono* entre le début et la fin de la conservation

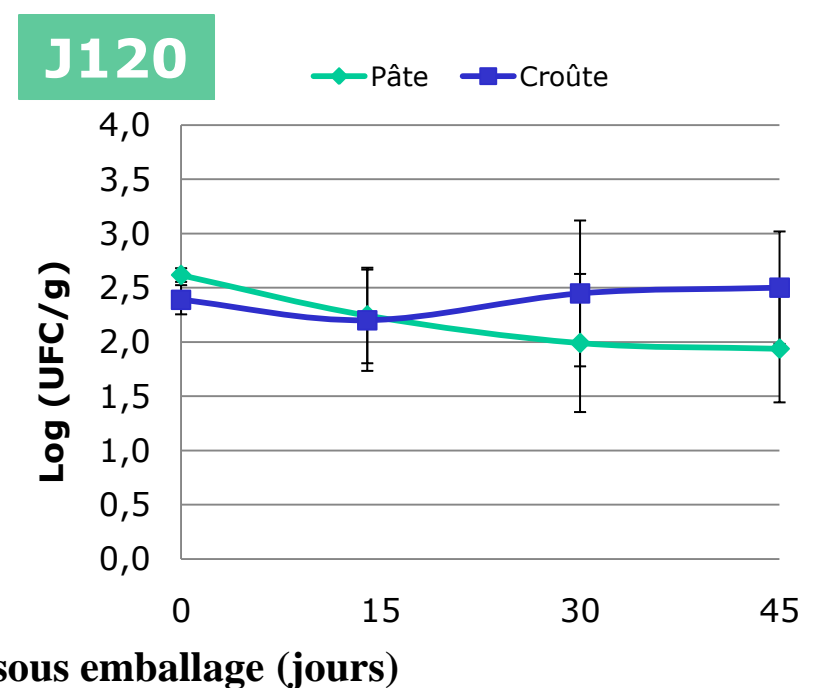
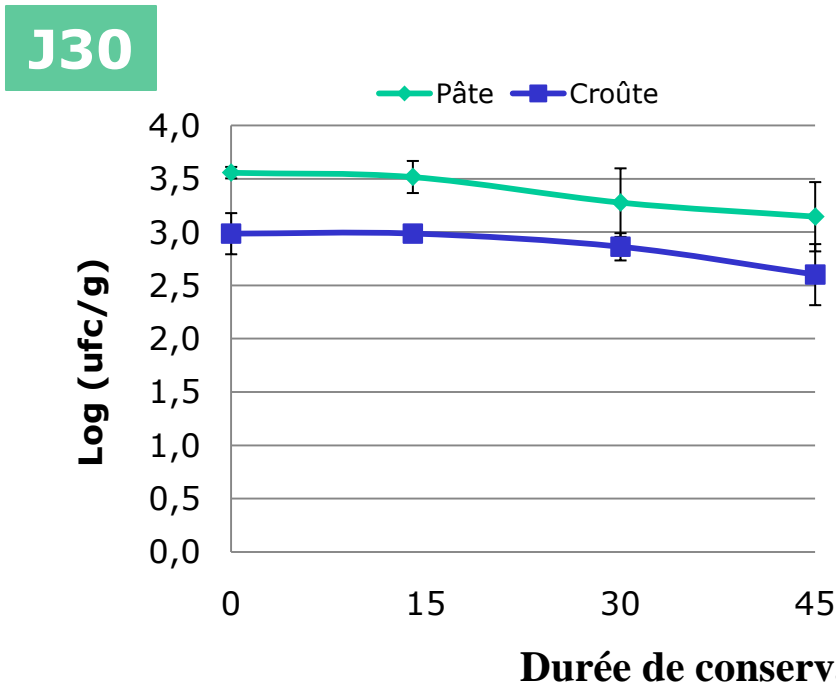


# Résultats : profil 2 « sous vide »



- Evolution de *L. monocytogenes* durant la conservation sous vide (45 jours)

Type d'emballage	Pâte / Croûte	J30		J60		J90		J120	
		Evolution	$\Delta \log^*$	Evolution	$\Delta \log^*$	Evolution	$\Delta \log^*$	Evolution	$\Delta \log^*$
Sous vide	P	—	-0,4	↘	<b>-1,0</b>	↘	<b>-0,7</b>	↘	<b>-0,7</b>
	C	—	-0,4	↗	<b>+0,6</b>	—	-0,1	—	+0,1



# Résultats :

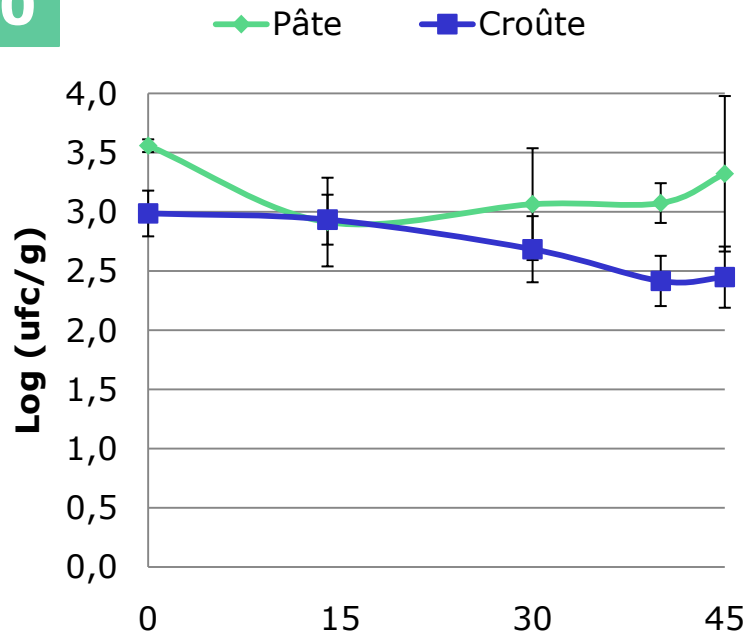
## Profil 3 « à la coupe »



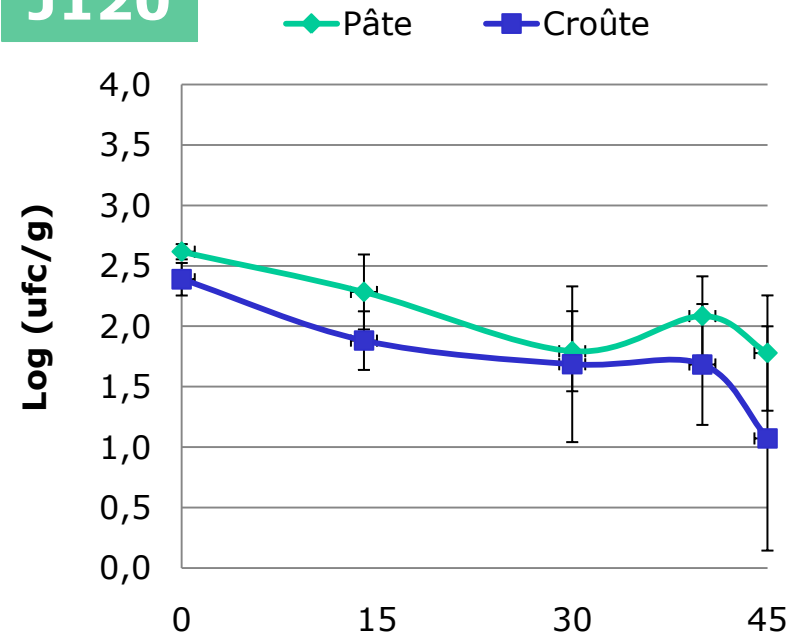
- Evolution de *L. monocytogenes* durant la conservation sous film plastique + papier kraft (45 jours)

Type d'emballage	Pâte / Croûte	J30		J60		J90		J120	
		Evolution	$\Delta \log^*$	Evolution	$\Delta \log^*$	Evolution	$\Delta \log^*$	Evolution	$\Delta \log^*$
Papier kraft	P	—	-0,2	↘	<b>-1,2</b>	↗	<b>-1,1</b>	↘	<b>-0,8</b>
	C	↘	-0,5	—	-0,2	↘	<b>-1,3</b>	↘	<b>-1,3</b>

### J30



### J120



Durée de conservation sous emballage (jours)

# Résultats : emballage (bilan)

---



- Evolution de *L. monocytogenes* différente entre la pâte et la croûte :
  - en pâte : décroissance pour les 3 types d'emballage
  - en croûte : décroissance uniquement sous papier kraft à partir de J90
  
- Evolution différente selon le type d'emballage :
  - en frais : décroissance forte et continue en pâte
  - sous vide : décroissance continue en pâte, mais plus modérée
  - sous papier kraft : décroissance forte mais souvent discontinue
  
- Effet de l'emballage moins marqué sur les fromages jeunes (J30)

# Résultats : suivi du pH et de l'a<sub>w</sub>



- Faible évolution du pH et de l'a<sub>w</sub> dans la pâte
- Fortes évolutions du pH et de l'a<sub>w</sub> en croûte, différentes selon le type d'emballage

Type d'emballage	Stade d'emballage	pH croûte			A <sub>w</sub> croûte		
		J0	Fin DLUO	Evolution	J0	Fin DLUO	Evolution
En frais	<b>J30</b>	6,15 (±0,26)	7,09 (±0,27)	↗	0,947 (±0,004)	0,958 (±0,014)	↗
	<b>J120</b>	7,38 (±0,16)	7,98 (±0,08)	↗	0,942 (±0,015)	0,950 (±0,004)	↗



Pas de relation directe observée entre l'évolution du pH et de l'a<sub>w</sub> et l'évolution du niveau en *L. monocytogenes*.

# CONCLUSIONS

---



➤ Evolution de *L. monocytogenes* dans les fromages de type Cantal, en “Challenge-tests”, se caractérise par :

- croissance dans les 1ères étapes de la fabrication (24h)
- stabilisation ou faible augmentation, en début d’affinage (J3 à J30)
- décroissance dans la pâte et la croûte des fromages pendant l’affinage

➤ En cours de conservation sous emballage :

- en pâte : décroissance avec les 3 types d’emballage
- en croûte :
  - peu d’évolution en frais et sous vide (croissance à un seul stade d’emballage)
  - décroissance avec l’emballage sous papier kraft
- importantes modifications des paramètres physico-chimiques de la croûte



Nécessité de suivre des fromages naturellement contaminés

# PERSPECTIVES



- Traitement des données des Challenge-tests : mise en relation des niveaux en *L. monocytogenes* avec l'ensemble des caractéristiques physico-chimiques, biochimiques (lactate, acides gras volatiles) et microbiologiques des fromages

→ Expliquer la décroissance

- Traitement des données 'terrain' des 3 filières : fréquence et niveau de contamination, paramètres technologiques et physico-chimiques des fromages de 'terrain'

→ Analyses quantitatives des risques (modélisation) : prédire l'évolution du pathogène dans les conditions réelles, selon les niveaux de contamination du terrain



Rapport complet à la DGAL pour demander le positionnement de ces fromages vis-à-vis de la réglementation