

<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Contacts :</b>  <b>BEUVIER Eric</b>  INRA- Unité de Recherches en Technologie et Analyses  Laitières – BP 20089 - 39801 Poligny Cedex  Courriel : beuvier@poligny.inra.fr</li> <li><b>FEUTRY Fabienne</b>  CDEO – 64130 ORDIARP  Courriel : ffeutry@hotmail.com</li> </ul>	<b>Crée le :</b>  23/06/2005	<b>Modifiée le :</b>
--	------------------------------------	----------------------

## Quelques bases sur la microbiologie du lait et du fromage...

*Les micro-organismes jouent un rôle important dans le monde vivant. Ils peuvent avoir des effets bénéfiques ou nuisibles en fonction des domaines considérés (biotechnologie, environnement, santé, etc....). Dans ce document, seront donnés dans un premier temps quelques éléments de bases de microbiologie (description des différents types de microorganismes, facteurs influençant leur croissance). Puis, seront décrits les différents microorganismes rencontrés dans le lait ainsi que dans les fromages en fonction de leur rôle potentiel. Finalement, seront évoquées brièvement les différentes sources de contamination/d'ensemencement du lait.*

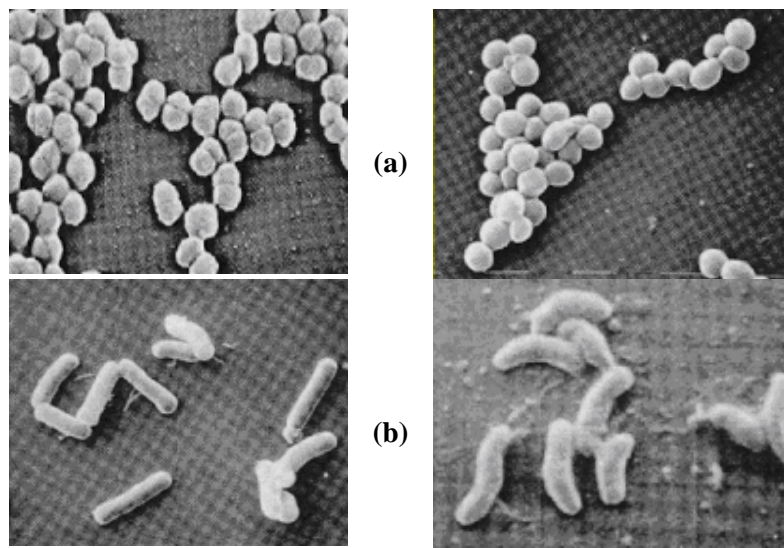
### Quelques notions de microbiologie

Le mot germe est un mot générique utilisé pour désigner un micro-organisme présent dans un milieu donné, de taille microscopique et donc invisible à l'œil nu. On emploie aussi le terme microbe même si dans l'esprit de beaucoup, ce mot a souvent une connotation négative. La flore microbienne totale quantifiée lors des analyses de lait sous le terme « germes totaux » représente une image (non exhaustive) de l'ensemble des micro-organismes vivants présents dans l'échantillon de lait.

**La flore microbienne des laits crus** englobe différents types de micro-organismes :

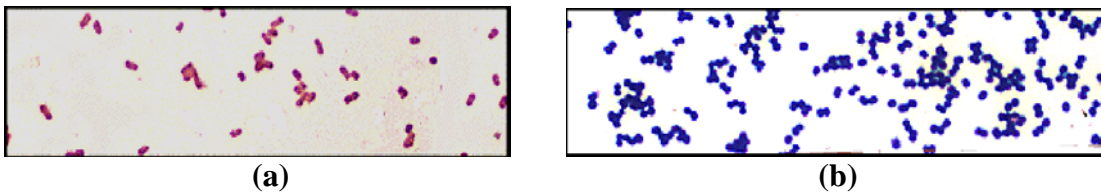
- **les bactéries**

Parmi les micro-organismes rencontrés dans le lait, les bactéries sont ceux qui prédominent. Les bactéries sont des cellules de petite taille (quelques  $\mu\text{m}$ ). Elles peuvent être sphériques (coques), en bâtonnet (bacilles) plus ou moins réguliers ou incurvés (**Photo 1**), mobiles ou pas. Placées dans des conditions d'environnement défavorables, certaines d'entre elles sont capables de donner naissance à des spores qui vont leur permettre de survivre. C'est le cas par exemple des butyriques (*Clostridium tyrobutyricum*) qui peuvent résister à des conditions hostiles de température grâce à la sporulation.



**Photo 1 :** (a) coques, (b) bacilles

Un des moyens d'études des bactéries est l'examen microscopique. Après fixation et coloration, il permet de mieux apprécier leur morphologie. Il existe de nombreuses méthodes de coloration. Celle qui est la plus utilisée est la coloration de Gram qui permet de différencier les bactéries selon la structure de leur paroi, en bactéries à Gram positif et bactéries à Gram négatif (**Photo 2**). Complétée par la recherche d'une enzyme, la catalase, cette différenciation est très utile pour orienter l'appartenance des bactéries à une famille (*Streptococcaceae*, *Micrococcaceae*, *Enterobacteriaceae*...). Au sein d'une même famille, chaque bactérie se décline en genre, espèce, sous-espèce (ssp ou subsp) et parfois en biovar, c'est le cas par exemple de *Lactococcus lactis* ssp *lactis* biovar *diacetylactis* et de *Staphylococcus aureus* qui appartiennent respectivement à la famille des *Streptococcaceae* et des *Staphylococcaceae*.



**Photo 2** : (a) bactéries à Gram négatif, (b) bactéries à Gram positif

- **les champignons**

Ils regroupent en réalité deux types de micro-organismes : les levures et les moisissures.

- **les levures**

Etant donné leur grande capacité d'adaptation à de nombreux substrats, les levures sont très largement répandues dans l'environnement et se retrouvent de façon normale dans le lait. Ce sont des champignons chez lesquels la forme unicellulaire est prédominante (**Photo 3**). La forme la plus fréquente est ovale ou sphérique. Elles sont classées par genres et espèces et sont regroupées elles aussi au sein de famille selon leur morphologie et leur mode de reproduction. On compte notamment parmi elles *Geotrichum candidum*, *Saccharomyces cerevisiae*.

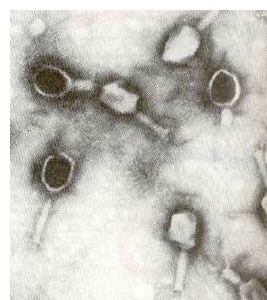
- **les moisissures**

Tout comme les levures, les moisissures peuvent être véhiculées par l'environnement et se retrouver dans le lait et dans le fromage. Ce sont des micro-organismes filamenteux qui sont disséminés par l'émission de spores. La présence de certaines d'entre elles de façon superficielle ou interne constitue une caractéristique majeure de certains types de fromages. C'est le cas de certaines espèces de *Penicillium*.

Le lait peut aussi contenir des particules virales, appelées **bactériophages** (**Photo 4**). Ce sont des parasites obligatoires des cellules bactériennes, ils ne peuvent pas survivre seuls dans le milieu extérieur. Ils peuvent être présents dans l'air, sur le matériel et de façon quasi systématique dans les lactosérums. Ils peuvent provoquer la destruction des bactéries responsables de l'acidification lors de la transformation fromagère lorsqu'ils sont virulents. Certains, dits tempérés, ont la faculté de cohabiter avec leur bactérie hôte sans perturber son cycle de développement. Ils ne sont donc pas comptabilisés lors du dénombrement de germes totaux réalisés lors des analyses de lait.



**Photo 3** : levures



**Photo 4** : bactériophages

## Facteurs affectant le développement des germes

Les bactéries, les levures et les moisissures ont des exigences nutritionnelles et physiologiques qui leur sont propres. De plus, au sein de chaque groupe, il existe des spécificités liées au genre, à l'espèce ou à la sous espèce concernés. Lorsqu'ils atteignent le lait, les micro-organismes doivent donc s'adapter d'une part aux caractéristiques de ce milieu (facteurs intrinsèques) mais aussi aux facteurs ambiants (extrinsèques) auxquels le lait est soumis.

### Facteurs intrinsèques

- **le pH** : La grande majorité des bactéries et champignons ont la capacité de se développer à un pH proche de la neutralité (**Tableau 1**). Les levures ont comme la plupart des micro-organismes fongiques un caractère acidotrophe, ce qui leur permet de se développer à des pH acides.
- **l'activité de l'eau (aw)** : elle correspond à la quantité d'eau libre disponible pour le développement des micro-organismes nécessaire pour la bonne marche des processus chimiques et enzymatiques. Dans le lait, une partie de l'eau est liée aux différents constituants. L'aw est un plutôt un facteur limitant pour le développement des microorganismes dans le fromage. En début d'affinage, c'est principalement la teneur en NaCl qui règle l'aw du fromage.
- **le potentiel d'oxydoréduction** : il est déterminé par la présence dans le lait de réducteurs (qui se charge en oxygène et perdent des électrons) et d'oxydants (qui se chargent en électrons et perdent de l'oxygène). Le potentiel redox résultant de cet équilibre peut influencer le développement de la flore microbienne selon ses besoins en oxygène. Les germes qui ont besoin d'oxygène pour se développer agissent comme des réducteurs et baissent le potentiel d'oxydoréduction. On distingue ainsi quatre classes :
  - **aérobies stricts** lorsqu'ils ne peuvent se développer qu'en présence d'oxygène (*Pseudomonas*, Microcoques, moisissures)
  - **aéro-anaérobies facultatifs** : lorsque leur développement peut se faire en présence ou en absence d'oxygène (coliformes, staphylocoques)
  - **anaérobies stricts** : lorsque leur développement ne peut se faire qu'en absence d'oxygène (*Clostridium*)
  - **microaérophiles** : lorsque leur développement ne nécessite qu'un taux faible d'oxygène (*Lactobacillus*, *Streptococcus*).

Le développement de certaines populations microbiennes peut entraîner des modifications du potentiel redox du lait et faire en sorte que les conditions deviennent hostiles pour d'autres.

- **la composition en nutriments** : le lait est composé d'une grande variété de vitamines, minéraux, sucres, protéines et matières grasses disponibles pour le développement des micro-organismes. Ces derniers doivent cependant posséder les systèmes enzymatiques adéquats pour pouvoir les métaboliser. Les fluctuations dans la composition chimique du lait peuvent donc favoriser ou ralentir le développement des micro-organismes en fonction de leurs exigences nutritionnelles et de leur potentiel métabolique.
- **les systèmes antimicrobiens** : dans le lait, il existe des systèmes inhibiteurs naturels qui peuvent agir sur le développement des micro-organismes. Parmi eux, on distingue les systèmes liés à la composition physicochimique du lait (système lactoperoxydase-thiocyanate-peroxyde d'hydrogène, lactoferrine, acides gras libres), ceux liés à l'état immunitaire de l'animal (production d'anticorps, de cellules) et ceux liés à la production microbienne de bactériocines, substances produites par certains germes qui vont aller inhiber spécifiquement ou pas d'autres germes.

L'ensemble de ces paramètres sont eux-mêmes dépendants de facteurs amont liés à l'animal comme la race, le cycle de lactation, la génétique mais aussi aux conditions de production, en particulier l'alimentation.

**Tableau 1** : Niveaux de pH pour le développement des micro-organismes

Groupes	Min - Max	Optimum
Bactéries	4,5 - 9	6,5 – 7,5
Levures	2 - 11	4 - 6
Moisissures	2 - 9	-

### Facteurs extrinsèques

Ce sont les facteurs liés au milieu ambiant. Parmi eux,

- **la température**

Tous les micro-organismes ne se développent pas à la même température. On distingue trois groupes selon la température optimum de croissance : les mésophiles, les psychrophiles et les thermophiles (**Tableau 2**). Certaines bactéries lactiques comme les lactocoques appartiennent au groupe des mésophiles tandis que d'autres comme *Streptococcus thermophilus* sont thermophiles. Les germes psychrotrophes et thermotrophes sont mésophiles, mais peuvent également se développer respectivement à basse et haute température.

- **les gaz atmosphériques** : ils n'influent pas de façon marquante la qualité du lait cru, excepté en cas d'agitation forte où l'oxygène de l'air peut favoriser le développement de la flore microbienne aérobie.

**Tableau 2** : Niveaux de température (°C) pour le développement des micro-organismes

Groupes	Min	Optimum	Max
Thermophiles	40-45	55-75	60-90
Mésophiles	5-15	30-40	40-47
Psychrotrophes	-5 - +5	25-30	30-35

### Micro-organismes et produits laitiers

Les microorganismes occupent une place essentielle dans le domaine des produits laitiers et leur importance se situe à trois niveaux : l'élaboration, l'altération et l'hygiène des produits.

#### Micro-organismes utiles

Dans le domaine de l'industrie laitière, de multiples microorganismes utiles sont impliqués :

- **bactéries**

- **les bactéries lactiques** : Ce sont des bactéries Gram + (coques ou bacilles) produisant de l'acide lactique par fermentation des glucides simples ou oses (fermentation lactique), tolérant des pH acides, de niches écologiques anaérobies ou anaérobies facultatives et se montrant catalase négative. On distingue principalement : les lactocoques, les leuconostocs, les pédiocoques, les streptocoques thermophiles, les lactobacilles mésophiles et thermophiles et les entérocoques. Elles ont pour rôles essentiels d'acidifier le lait et le caillé, de participer à la formation du goût (protéolyse, production d'arômes), de la texture et de l'ouverture des produits laitiers (fromage, beurre, yaourt, lait fermenté). Ces bactéries sont maintenant largement utilisées sous formes de levains sélectionnés.
- **les bactéries propioniques**. Ce sont des bactéries Gram +, fermentant les lactates pour donner de l'acide acétique et propionique, ainsi que du CO<sub>2</sub> (fermentation propionique). Ils participent à la formation du goût et de l'ouverture des fromages à pâte pressée cuite (Emmental, Comté, Gruyère).
- **les microcoques, les staphylocoques non pathogènes** (*Staphylococcus equorum*, *S. xylosus*, *S. lentus*), **les bactéries corynéformes** (*Brevibacterium*, *Arthrobacter*, etc.). Ce sont des bactéries Gram+, constituants de la flore de surface des fromages affinés. Ils jouent un rôle essentiel dans

la formation du goût des fromages, notamment des fromages à croûte lavée, fleurie ou croûte mixte (Munster, Camembert, Pont l'Evêque, etc....).

- **levures** : *Kluyveromyces*, *Geotrichum candidum*, *Debaryomyces*, *Candida*, *Yarrowia*

Les levures sont retrouvées de manière plus importante (en moyenne 100 fois plus) à la surfaces des fromages (à pâte molle notamment) qu'à l'intérieur. Elles interviennent dans la désacidification de la pâte en début d'affinage, permettant ainsi l'implantation ultérieure d'une flore acido-sensible comme les bactéries corynéformes, et interviennent également dans la formation du goût.

- **moisissures** : *Penicillium camemberti*, *Penicillium roqueforti*, *Mucor*

*P. camemberti* est présent à la surface des fromages à pâte molle à croûte fleurie comme le Camembert ou les fromages de chèvre. *P. roqueforti* est la moisissure interne des bleus comme le Bleu d'auvergne (lait de vache) ou le Roquefort (lait de brebis). *Mucor* est la moisissure dominante à la surface de la Tomme de Savoie et est présente également à la surface du Saint Nectaire fermier. Par leurs aptitudes biochimiques, les moisissures jouent un rôle déterminant dans la formation des caractéristiques sensorielles des fromages.

### **Micro-organismes responsables d'altération**

Du fait même de leur composition et des conditions de production, le lait et les produits laitiers peuvent être contaminés par des microorganismes qui, en se multipliant dans le milieu, provoquent des transformations nuisibles à la qualité des produits par dégradation de leurs constituants (protéines, lipides, lactose) et (ou) libération en leur sein de composés indésirables. Ces dégradations peuvent être dues à des bactéries, levures et moisissures et se traduisent par des défauts de goût, d'odeur, d'aspect et de texture.

- **bactéries**

*Les coliformes* peuvent être responsables de gonflements précoces dans les fromages, conduisant notamment en pâte molle, à des accidents spectaculaires (fromage à aspect spongieux). Ce gonflement est du principalement à la formation d'hydrogène très peu soluble dans le fromage.

Lors de leur développement dans le lait et les produits laitiers, *les bactéries psychrotrophes* (genre *Pseudomonas* principalement, mais également *Bacillus*) peuvent produire des lipases et protéases extracellulaires, généralement thermostables. Ces enzymes peuvent provoquer des défauts de goût dans les fromages (goût de rance, amertume) ou être responsables (protéases) de la déstabilisation des laits UHT.

*Les bactéries butyriques* (*Clostridium tyrobutyricum*) peuvent se développer dans les fromages (à pâte pressée cuite et non cuite) et donner des défauts de goût et d'ouverture (« gonflement tardif ») par fermentation butyrique (production d'acide butyrique et d'hydrogène).

- **levures et moisissures**

Elles se manifestent dans le fromage (peu dans le lait). Ainsi, *Mucor* est responsable de l'accident dit « poil de chat » principalement en fromage à pâte molle, se caractérisant par un défaut d'aspect des fromages, et par l'apparition de mauvais goûts. De même, *Geotrichum candidum* peut devenir un agent d'altération (défaut de texture et de goût) en technologie pâte molle s'il est amené à trop se développer (accident de la « graisse » ou de la « peau de crapaud »).

Il est à noter que le regroupement des microorganismes en flore utile ou flore d'altération est à nuancer en fonction des technologies considérées. Par exemple, le *Mucor* est utile en Tomme de Savoie, mais nuisible en Camembert (accident du « poil de chat »).

### Micro-organismes potentiellement pathogènes

La contamination du lait et des produits laitiers peut être aussi l'oeuvre de germes dangereux pour la santé du consommateur.

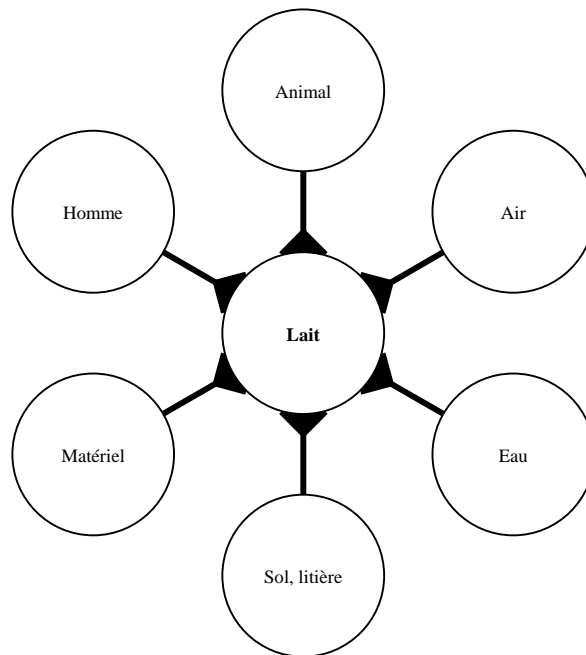
Ainsi *Staphylococcus aureus* peut produire des entérotoxines dont l'ingestion provoque des vomissements, souvent accompagnés de diarrhée. *Salmonella* peut provoquer les mêmes symptômes, caractéristiques d'une toxi-infection alimentaire, ainsi qu'*Escherichia coli*.

*Listeria monocytogenes* peut provoquer la listériose qui atteint préférentiellement la femme enceinte (avortement), le nouveau-né et l'adulte immunodéprimé (septicémies, méningites).

Outre ces quatre bactéries pathogènes classiquement recherchées en contrôle qualité, le lait est susceptible de contenir d'autres micro-organismes potentiellement pathogènes tels que *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*, *Bacillus cereus* ou *Aspergillus* (production de mycotoxines).

### Sources de contamination/d'ensemencement du lait

La figure ci-dessous schématise les principales sources de contamination/d'ensemencement du lait cru.



### Référence

- Les groupes microbiens d'intérêt laitier. 1992. Coordonné par J. Hermier, J. Lenoir & F. Weber. Edition CEPIL, Paris.