

ACTION N°6

Approche microbienne sur des fermes en agrobiologie

Maître d'œuvre : Fédération Régionale des Agrobiologistes de Bretagne (FRAB), Agrobio 35

Partenaire scientifique : Laboratoire Berthet, INRA, CIRM-BIA (Centre International de Ressources Microbiennes - Bactéries d'Intérêt Alimentaire)

Durée du programme : 5^{ème} année (année complémentaire) / 4 ans

Objectifs

Les objectifs de l'étude étaient de mieux connaître, par une approche systémique, le microbisme sur des fermes laitières biologiques et d'évaluer la pertinence de l'outil novateur qu'est le test de lactofermentation. Le recours aux techniques d'analyse expérimentale de détermination du profil microbien et biochimie (azotée) du lait a permis :

- D'évaluer la valeur de l'outil lactofermentation,
- D'identifier à quels critères microbiologiques et/ou biochimiques correspondent les classements retenus pour ce test.

Protocole

Suivi de 24 échantillons de 24 vaches différentes, provenant d'une même ferme, analysés sur le plan bactériologique (CIRM-BIA) et biochimique (INRA St Gilles). Sur chaque échantillon individuel, les analyses suivantes ont été réalisées :

- Lactofermentation 36h, étuve à 37°C
- Suivi de l'acidification spontanée par multipHmètre Cinac à 37°C
- Dénombrement de différentes flores bactériennes avant et après lactofermentation :
 - ▶ Flore totale (PCA 72h à 30°C)
 - ▶ Flore indésirable (Coliformes, Entérocoques) milieux sélectifs
 - ▶ Flore lactique (Lactocoques, Streptocoques, Lactobacilles) milieux sélectifs
- Caractérisation biochimique de ces mêmes échantillons de lait (MAT, azote non caséinique, azote non protéique, caséine, protéines, protéines solubles)

Résultats et commentaires

Résultats de lactofermentation

La lactofermentation naturelle est un test empirique, à l'origine utilisé pour prédire la valeur fromagère des laits collectés. Il est la résultante de l'interaction entre des flores microbiennes (lactiques et pathogènes) et le lait en tant que substrat de développement.



Type A
Caillé et
surnageant
de lactosérum



Type B
Caillé sur toute
la hauteur



Type C
Le lait reste
liquide



Type D
Digestion du
caillé

La lecture proposée du test de lactofermentation retient 4 types de résultats : A et B sont les cas les plus favorables, C montre une non évolution et D est plutôt défavorable.

Sur les 24 échantillons suivis, les résultats sont les suivants :

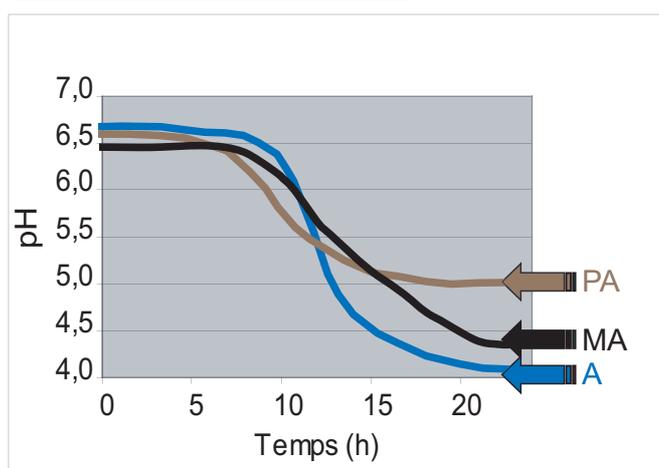
Type B	17	
Type C	3	
Type D	4	

A noter que les échantillons de lait notés C ont ensuite évolué vers le type B.

Nous avons donc 71% de résultats favorables (résultats B) et 29% de résultats défavorables (résultats C et D), à une lecture à 36 heures.

Il est à noter que l'occurrence A est absente de cette série de test, ce qui serait significatif d'un état typiquement inflammatoire d'après l'interprétation proposée des résultats de lactofermentation. On remarque sur ce troupeau un taux leucocytaire élevé sur cette période (400 000/ml).

Suivi de l'acidification



10 échantillons PA : activité "peu acidifiante" (PH < à 5 en 24h)

6 échantillons MA : activité "moyennement acidifiante" (pH < à 5 en 15h mais qui en 24h atteint un niveau d'acidification < à 4,5)

8 échantillons A : activité "fortement acidifiante" (niveau d'acidification < 4,5 atteint en moins de 15h)

Dénombrements lors du processus de lactofermentation

Avant lactofermentation

La flore totale est en moyenne de 100 000 germes/ml, répartis de la façon suivante :

- **Coliformes** : entre 10 et 1 000 selon les échantillons
- **Entérocoques** : majoritairement inférieurs à 100 (5 échantillons proches de 1 000)
- **Streptocoques*** : proches de 100
- **Lactocoques*** : entre 1 000 et 10 000 = fraction majoritaire de la flore totale (échantillons homogènes)
- **Lactobacilles*** : ~ 500 (échantillons homogènes)

* *Flore lactique* : flore participant à la coagulation du lait. Précipitation des caséines du **lait à partir de pH 4,6** conduisant à la formation d'un caillé.

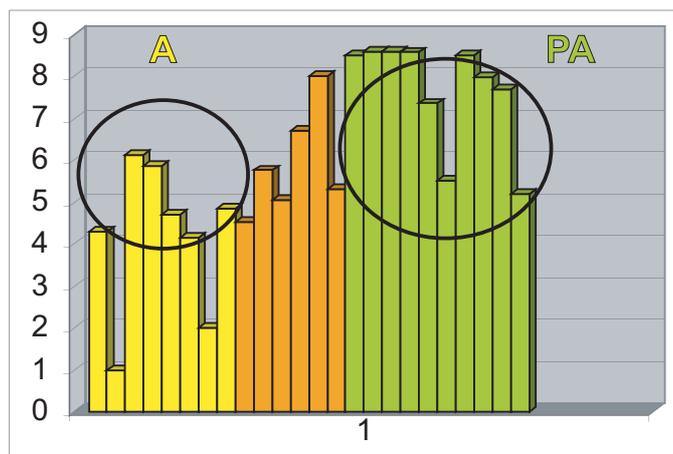
Après lactofermentation

Environ 100 000 000 de germes par ml de lait (en majorité des flores lactiques) ont "*pris le dessus*", excepté pour les échantillons peu acidifiants où le niveau de coliformes est comparable au niveau de lactiques.

Interprétation

Les résultats de lactofermentation favorables dans 70% des cas s'expliquent par la prédominance des flores lactiques qui ont stabilisé le caillé sur ces échantillons. Ces résultats montrent que ce sont les flores lactiques qui sont majoritairement responsables de l'apparition du caillé. Inversement, l'état du caillé après lactofermentation est représentatif des flores microbiennes présentes dans le lait avant lactofermentation.

Bilan



Lait A :

Niveau moyen de coliformes et d'entérocoques < 1 000 000

Laits PA :

Niveau moyen de coliformes et d'entérocoques > 10 000 000

Les 4 échantillons classés D (résultats de lactofermentation défavorables) appartiennent au groupe des laits peu acidifiants (PA) avec un niveau de coliformes et d'entérocoques élevé.

Ces résultats tendent donc à confirmer que les moins bons résultats de lactofermentation sont obtenus sur des laits présentant des flores microbiennes indésirables (coliformes et entérocoques) élevées.

Ces résultats demanderaient à être confirmés sur un nombre plus conséquent d'échantillons.

Caractérisation biochimique des laits

Les données biochimiques ne permettent pas d'identifier un critère prépondérant qui expliquerait ou serait corrélé aux résultats de lactofermentation observés. Cependant, on peut intégrer l'approche dynamique de la lecture du résultat de lactofermentation ; dans ce cas, on observe l'évolution du résultat de lactofermentation sur plusieurs heures après le résultat final.

Ainsi, sur les 17 échantillons obtenus en classe B, 2 sont passés en A au bout de 60 heures. Sur ces 2 échantillons, le taux d'azote non caséique (comprenant les protéines solubles) est inférieur à celui des autres échantillons du groupe des B. Cet écart est plus important encore avec les échantillons B les moins "solides".

On pourrait alors émettre l'hypothèse que les protéines solubles d'une manière générale en faible quantité favorisent les bons résultats de lactofermentation. Ces protéines solubles (liées en partie à la génétique) pourraient expliquer une part de "l'effet individu" constaté à la suite des différentes années d'étude. La constance de ces teneurs en regard de résultats de lactofermentation mériterait d'être étudiée.

Contacts

Steven GUYADER, responsable du projet, Agrobio 35 - Tél. : 02 99 77 09 46

Katell GUEGUEN, animatrice GAB 29 - Tél. : 02 98 25 80 33

