

APNEE : Approfondissement des Protocoles expérimentaux en vue d'une utilisation de l'installation de traite de la ferme caprine du Pradel pour répondre aux enjeux environnementaux, sanitaires et technologiques **autour des procédures de NETtoyage Et désinfection**

Rapport final - Période de réalisation : 2022



Collection

Résultats

Equipe de rédaction :

Gaëlle COQUEREAU et Cécile LAITHIER (Institut de l'Élevage)

Personnes ayant contribué à la réalisation des travaux :

Claire Boyer, Jean-Louis Poulet (Institut de l'Élevage), Jérôme Dubosc (GDS 07), Simon Fressinaud (Ferme expérimentale caprine du Pradel), Sylvie Morge (Chambre d'agriculture de l'Ardèche).

Mise en page :

Valérie LOCHON (CRA NA)

APNEE : Approfondissement des Protocoles expérimentaux en vue d'une utilisation de l'installation de traite de la ferme caprine du Pradel pour répondre aux enjeux environnementaux, sanitaires et technologiques autour des procédures de NETtoyage Et désinfection

Rapport final

Période de réalisation : 2022

Table des matières

I. Contexte	1
II. Objectifs du projet.....	2
III. Méthodologie	3
1. Calendrier des essais	3
2. Choix de la procédure de nettoyage de la machine à traire étudiée	3
3. Incident de nettoyage	4
4. Etude de l'incidence de la procédure testée sur le biofilm de la machine à traire.....	5
5. Etude de l'incidence de la procédure testée sur la fromageabilité du lait	5
6. Etude de l'incidence de la procédure testée sur le fonctionnement fin de la machine à traire.....	6
7. Evènements ayant pu perturber les résultats.....	6
8. Analyse de données.....	6
IV. Résultats.....	7
1. Etude de l'incidence de la procédure testée sur le biofilm de la machine à traire.....	7
2. Etude de l'incidence de la procédure testée sur la fromageabilité du lait	12
3. Etude de l'incidence de la procédure testée sur le fonctionnement fin de la machine à traire...	18
V. Conclusion	19

I. Contexte

La qualité sanitaire du lait est une préoccupation constante des filières laitières. Dans ce cadre, le nettoyage des installations de traite joue un rôle important. Celui-ci participe à conserver la qualité du lait, sain au sortir de la mamelle, jusqu'à la collecte ou transformation du lait cru, en limitant le développement des micro-organismes indésirables dans la machine à traire (MAT) (Laithier et Dartailh, 20141), en plus du maintien du matériel de traite dans un état de fonctionnement satisfaisant.

Le biofilm présent dans les MAT, concourt cependant à l'ensemencement du lait cru en microorganismes d'intérêt technologique (RMT Fromages de terroir, 20112). En filière lait cru,

l'équilibre de cet ensemencement peut donc être délicat à maîtriser. Les questions liées aux pratiques l'influençant, dont le nettoyage des MAT fait partie, persistent. En parallèle, on note que ces processus de nettoyage sont gourmands en eau et en produits de nettoyage et désinfection. Deux autres préoccupations découlent de ce constat. L'une porte sur l'impact de ses pratiques sur la préservation des ressources naturelles et la pollution de l'environnement. L'autre reste d'ordre sanitaire et concerne la nécessité de garantir un lait indemne de résidus chimiques.

L'installation de traite expérimentale de la ferme caprine du Pradel (2 MAT + tank sur peson + porte de tri) est à même de répondre aux besoins de création et de capitalisation de connaissances sur ces sujets évoqués. Les essais menés grâce au projet CMaFLAuRA illustrent ces possibilités. En effet, dans ce cadre, 5 protocoles de nettoyage et/ou de désinfection des MAT ont été testés. Les résultats amènent des tendances intéressantes, dont les techniciens et éleveurs caprins peuvent s'inspirer pour adapter leurs pratiques en élevage. Néanmoins, seules des tendances ont pu être dégagées. Un travail reste ainsi à accomplir pour renforcer la légitimité des résultats obtenus et de parfaire les protocoles expérimentaux pour de prochains essais.

II. Objectifs du projet

La finalité du projet est de consolider la méthodologie mise en œuvre dans le cadre de CMaFLAuRA pour étudier l'impact des procédures de nettoyage/désinfection sur l'ensemencement du lait cru par le biofilm de la MAT et sur la fromageabilité du lait cru. En parallèle, il s'agit de conforter les résultats obtenus sur un paramètre testé en élargissant l'étude à l'impact sur le fonctionnement de la MAT.

Les objectifs opérationnels sont les suivants :

- Déterminer la durée nécessaire d'essai. Une période courte a été utilisée dans CMaFLAuRA. Sur un paramètre donné, il s'agira de comparer les résultats obtenus dans le cadre de CMaFLAuRA, sur une période de 6 semaines, à ceux obtenus dans le présent projet où la période d'essai sera doublée.
- Tester l'impact d'un incident de nettoyage pour se rapprocher des conditions des fermes commerciales :

L'installation de traite de la ferme expérimentale du Pradel est conçue, utilisée et entretenue pour garantir des conditions optimales de traite. Celles-ci ne se retrouvent cependant pas dans tous les élevages. Le second objectif est donc de tester la robustesse des procédures étudiées dans un contexte dégradé de nettoyage. La mise en œuvre consistera à créer volontairement un incident de nettoyage sur une période déterminée. Des observations et mesures ciblées encadreront cet incident afin d'en étudier les conséquences.

- Déterminer et tester une méthodologie visant à voir l'effet du changement d'un paramètre sur le fonctionnement de la MAT :

Enfin, globalement, aucune incidence des essais n'a été observée sur le fonctionnement de la MAT. Cependant, lors de la journée technique de restitution des résultats du projet CMaFLAuRA en novembre 2021, des questions ont été formulées à ce sujet, et notamment autour de l'impact sur l'encrassement des capteurs de la dépose automatique des faisceaux trayeurs. Des observations à ce niveau n'ont pas été conduites dans le cadre de CMaFLAuRA. Or, il s'avère que c'est effectivement un sujet non négligeable, notamment dans un contexte de recherche de meilleures conditions de travail par les éleveurs et donc d'automatisation de la traite. Un projet d'approfondissement des protocoles expérimentaux sera donc une parfaite occasion pour étudier les effets des procédures testées sur le fonctionnement précis de la MAT.

III. Méthodologie

1. Calendrier des essais

Les travaux ont été pilotés par Idele en partenariat avec la ferme expérimentale du Pradel, en associant l'ANICAP au suivi des travaux. Les essais du projet APNEE se sont déroulés du 08 août au 08 novembre 2022. Les essais devaient se dérouler sur 12 semaines au départ mais quelques contraintes et aléas ont été rencontrés, le calendrier a été allongé de 2 semaines pour réaliser l'ensemble du travail prévu. Le calendrier ci-dessous (figure 1) présente les actions effectuées tout au long de l'essai. L'une des 2 machines à traire (MAT 1) a été nettoyée avec le protocole de nettoyage classique, elle constituera ainsi le témoin de l'étude. La 2ème MAT (MAT 2) a été lavée avec la procédure test.

Le protocole de nettoyage classique consiste en un nettoyage complet de la MAT après chaque traite à l'aide d'un acide ou d'une base. L'alternance des deux produits se fait tous les 7 lavages : on fait 6 lavages avec une base et le 7^{ème} sera avec un acide. Le protocole de lavage test consiste en un simple rinçage à l'eau froide le soir.

Toutes 2 ont été étudiées de la même manière, de façon à comparer facilement les données recueillies. Un défaut de procédure a été appliqué en milieu d'essai. Deux phases d'étude de la fromageabilité du lait ont été réalisées. La 1ère pendant le temps d'application du défaut de procédure et la 2ème à la fin des 12 semaines de l'essai. Le fonctionnement de l'installation de traite, et en particulier des systèmes de dépose automatique des faisceaux trayeurs a été plus particulièrement suivi en début et fin d'essai.

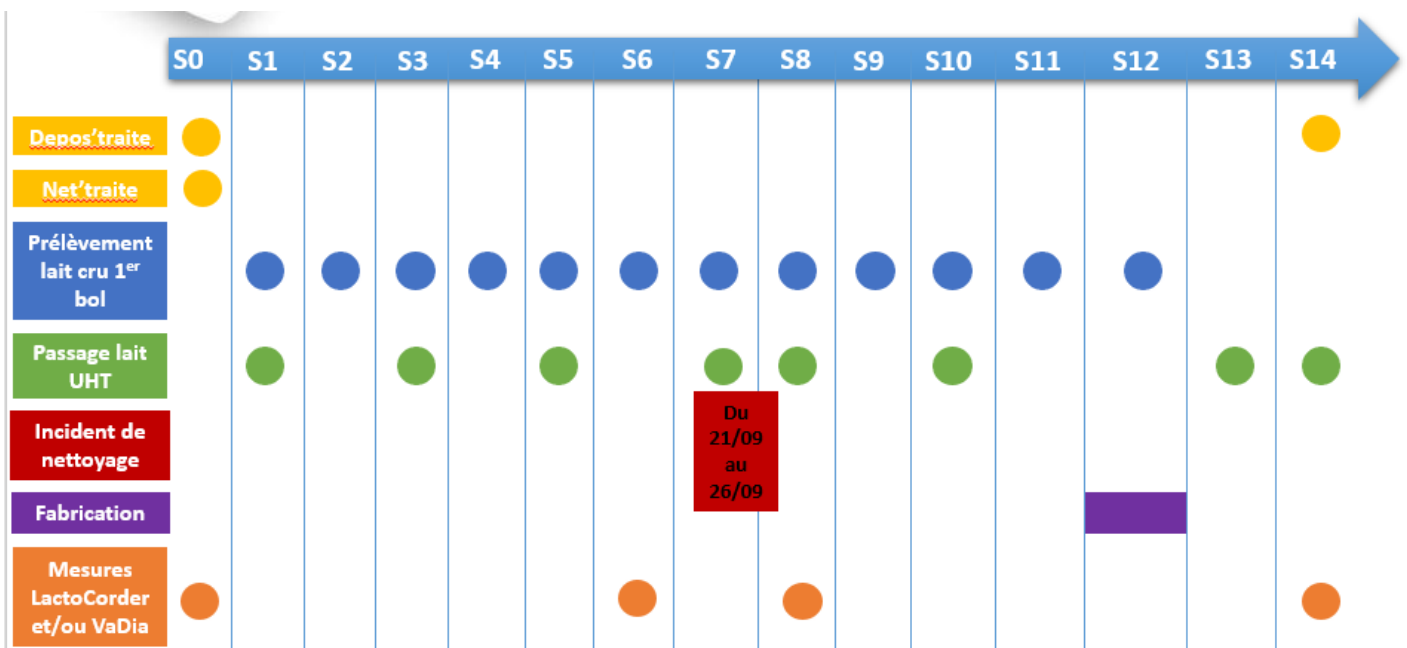


Figure 1 : Calendrier de réalisation des essais APNEE

2. Choix de la procédure de nettoyage de la machine à traire étudiée

Le protocole retenu pour être testé de façon plus approfondie consiste à réaliser un simple rinçage à l'eau froide après la traite du soir. Cette procédure allie plusieurs avantages et intérêts :

- Elle est économe en eau (-39%), en produit de lavage (-50%)³ et en électricité. Elle est donc pertinente des points de vue environnemental et économique ;
- Etant moins agressive pour le biofilm de la MAT, elle pourrait répondre, au moins en partie, au problème, de certains éleveurs fromagers, de laits paucimicrobiens (pauvres en micro-organismes). Le projet CMAFLAuRA a en effet mis en évidence un meilleur pouvoir acidifiant de la microflore issue de la MAT avec cette procédure de nettoyage ;
- En dehors de CMAFLAuRA, elle n'a jamais été testée dans ces conditions expérimentales, allant jusqu'à étudier l'influence sur l'évolution précise de l'ensemencement du lait cru et sa fromageabilité. Or pour les 2 raisons citées ci-dessus, elle présente un intérêt certain pour de nombreux éleveurs caprins et en particulier dans la filière lait cru.

3. Incident de nettoyage

Comme indiqué dans le protocole de départ, un incident de nettoyage a été mis en place durant l'essai. L'incident choisi a été un arrêt du chauffe-eau de la MAT2 du 21/09 au soir jusqu'au 26/09 matin. Avec l'inertie, l'eau n'a pas été directement froide lors des premiers lavages suite à l'incident, le refroidissement s'est fait graduellement. Il a fallu attendre le 25/09 pour avoir une eau à environ 30°C. Elle a ensuite été de 25°C le 26 matin puis le retour à la normale s'est effectué. Voici la courbe de température dans le chauffe-eau de la MAT2 du 21 au 29 septembre :

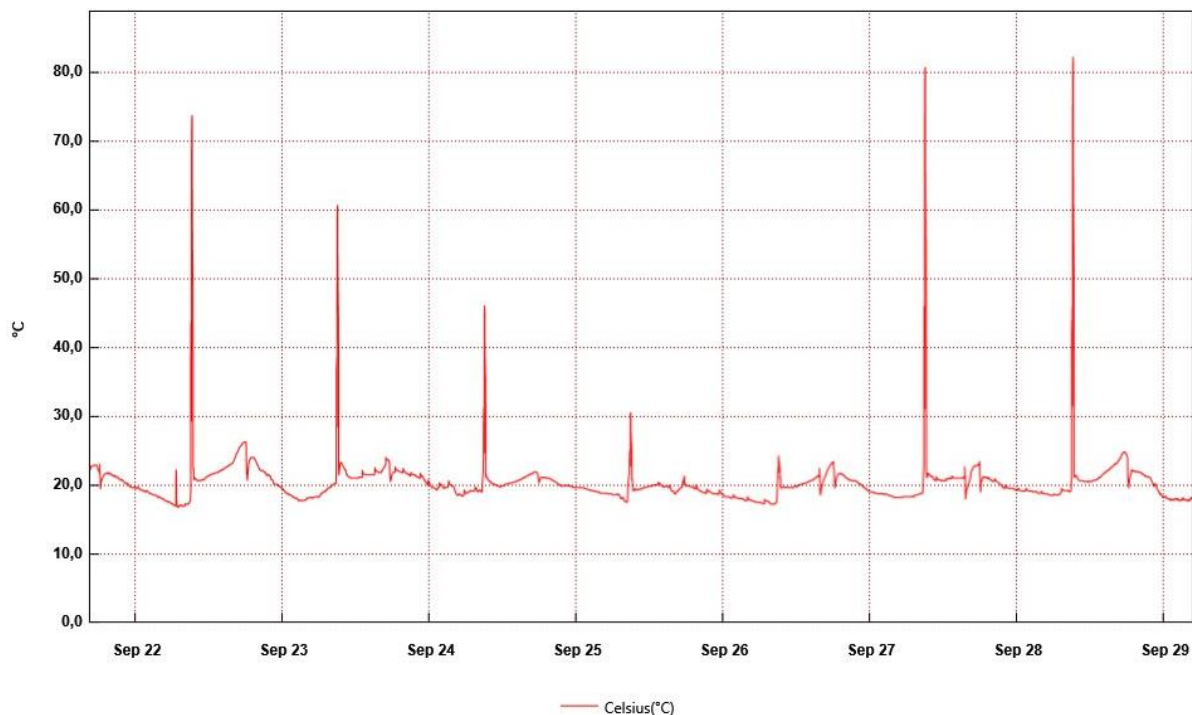


Figure 2 : Evolution des températures du chauffe-eau dont l'eau est destinée au nettoyage de la MAT 2 du 21 au 29 septembre 2022

4. Etude de l'incidence de la procédure testée sur le biofilm de la machine à traire

Cette partie de l'étude vise à étudier l'évolution du biofilm présent dans l'installation de traite tout au long de l'essai. Pour cela, des prélèvements, 8 au total, comme prévu, ont été réalisés en faisant passer du lait UHT dans chaque machine à traire. Ces prélèvements ont ensuite été congelés pour faciliter la logistique. Des analyses microbiologiques des échantillons ont enfin été conduites au laboratoire d'analyse Idele, situé à Villers-Bocage. Les groupes microbiens suivants ont été dénombrés : flore mésophile aérobie revivifiable (milieu gélosé PCA lait), flore lactique mésophile (MRSi), flore d'affinage (CRBM), levures et moisissures (OGA), bactéries à Gram négatif (PCAi), et *Pseudomonas* spp. (CFC). Ces groupes microbiens ont été choisis pour correspondre à la méthode de référence dans ce domaine, à savoir la méthode FlorAcQ. En complément, les flores potentiellement pathogènes ont été recherchées : *Listeria monocytogenes*, *Staphylocoques* à coagulase positive et *E. Coli*.

En parallèle, un suivi plus global de l'évolution du biofilm a été réalisé sans délai d'analyse, de façon à pouvoir arrêter l'essai en cours de route, si une dérive préoccupante était constatée. Pour cela, un échantillon du lait 1er bol a été prélevé pour chaque MAT, 1 fois par semaine. Un dénombrement de la flore totale a été fait par le laboratoire d'analyse interprofessionnel du secteur.

5. Etude de l'incidence de la procédure testée sur la fromageabilité du lait

L'étude de l'incidence de la procédure testée sur la fromageabilité du lait cru constitue une réelle plus-value du dispositif expérimental de la ferme caprine du Pradel. D'autant plus que l'effet des procédures de nettoyage et de désinfection de la machine à traire, sur la transformation du lait cru, n'a pas encore été documenté à ce jour, en dehors du projet CMAFLAuRA. Il convient donc de poursuivre l'intégration de ce volet lors des études sur le sujet.

Ainsi, en parallèle des analyses microbiologiques, les prélèvements de lait UHT après passage dans les machines à traire ont fait l'objet, comme prévu dans le programme prévisionnel, des mesures suivantes :

- à 22°C pour connaître notamment l'aptitude acidifiante du lait: pH en continue sur 48H à l'aide d'un enregistreur et évaluation de l'aspect du caillé et mesure de l'acidité de Dornic à 24 et 48H,
- à 37°C : évaluation de l'aspect pour une appréciation rapide et globale de la présence de flores d'altération telles que les coliformes, les psychrotrophes.

Le fromage étant produit à partir du lait cru, ces mêmes analyses ont été réalisées avec le lait cru prélevé en début de traite (ayant donc été le plus fortementensemencé par le biofilm de la MAT).

Les quantités de lait prélevées lors de ces manipulations permettent de transformer une partie de celui-ci, selon la méthode traditionnelle de fabrication du Picodon AOP. Une évaluation du produit a été réalisée à différentes étapes et jusqu'au produit fini, selon les modalités suivantes :

- Évaluation de l'aspect du caillé, des fromages au démoulage puis affinés,
- Relevés des flores indésirables et accidents de fabrication si constatés,
- Suivi de fabrication : mesure du rendement fromager, enregistrement des courbes d'acidification et de température, prises de températures, acidités Dornic ponctuellement au cours de la fabrication.

Ces analyses ont été conduites en parallèle pour chaque machine à traire, de façon à évaluer à la fois l'impact du changement de machine à traire, en contexte d'agrandissement de troupeau, et du protocole de NED.

6. Etude de l'incidence de la procédure testée sur le fonctionnement fin de la machine à traire

Garantir un fonctionnement correct de la MAT est un des objectifs principaux du nettoyage des MAT. Pour évaluer l'impact de la procédure de nettoyage sur le bon fonctionnement de la MAT, le recours aux contrôles officiels du COFIT est indispensable. Un Net'Traite® et un Dépos'Traite® ont donc été réalisés au démarrage de l'essai pour s'assurer de l'absence de dysfonctionnement et de la comparabilité des 2 MAT. Un 2ème Dépos'Traite® a été réalisé à la fin de l'essai afin d'évaluer si une dérive du fonctionnement des systèmes de dépose automatique des faisceaux trayeurs était apparue en cours d'essai sur les MAT. Afin de compléter le diagnostic, des outils de test pendant la traite ont été utilisés en parallèle des contrôles classiques. A savoir le LactoCorder®, mesurant le flux du lait dans le poste de traite, et le VaDia®, mesurant les variations du vide dans le faisceau trayeur. Ces 2 outils complémentaires permettent d'obtenir une vision très précise de la qualité de la traite à l'interface animal-machine-trayeur. Le VaDia® donne notamment une indication objective de la durée de surtraite.

7. Evènements ayant pu perturber les résultats

D'autres évènements ont eu lieu sur la ferme expérimentale et ont pu avoir un impact sur les résultats obtenus lors de l'essai :

- le 29/08 : Lavage classique (équivalent à celui de la MAT 1) sur la MAT2
- le 30/08 : Lavage du sol de la salle de traite
- le 01/09 : Changement de 4 manchons-trayeurs
- Le 15/09 : Changement de manchons-trayeurs : 3 sur la MAT1 et 5 sur la MAT2
- Le 21/09 : Nettoyage avec le filtre sur la MAT2
- Le 22/09 : Simple rinçage le matin sur la MAT1
- Le 28/09 : Curage de la chèvrerie

Il faut savoir que la MAT1 correspond à la MAT témoin, c'est-à-dire, qu'elle a gardé la procédure classique de nettoyage tandis que la MAT2 est la MAT qui a subi la modification de son nettoyage par un simple rinçage le soir.

8. Analyse des données

Les données récoltées tout au long de l'essai ont été analysées sous Excel principalement, afin de relever les éléments d'intérêt autour du projet.

Point d'attention pour l'interprétation des résultats : l'incident de nettoyage n'a eu lieu que pour une seule machine à traire, la MAT2. Il ne faut donc pas considérer qu'il y a un effet de l'incident sur la MAT1 dans les résultats.

2. Résultats

1. Etude de l'incidence de la procédure testée sur le biofilm de la machine à traire

Des analyses sur le lait UHT mis en circulation dans les deux MAT avant le début de l'essai ont été effectuées afin d'apprécier les caractéristiques du biofilm de départ dans les MAT. Les résultats sont représentés sur la figure 3 :

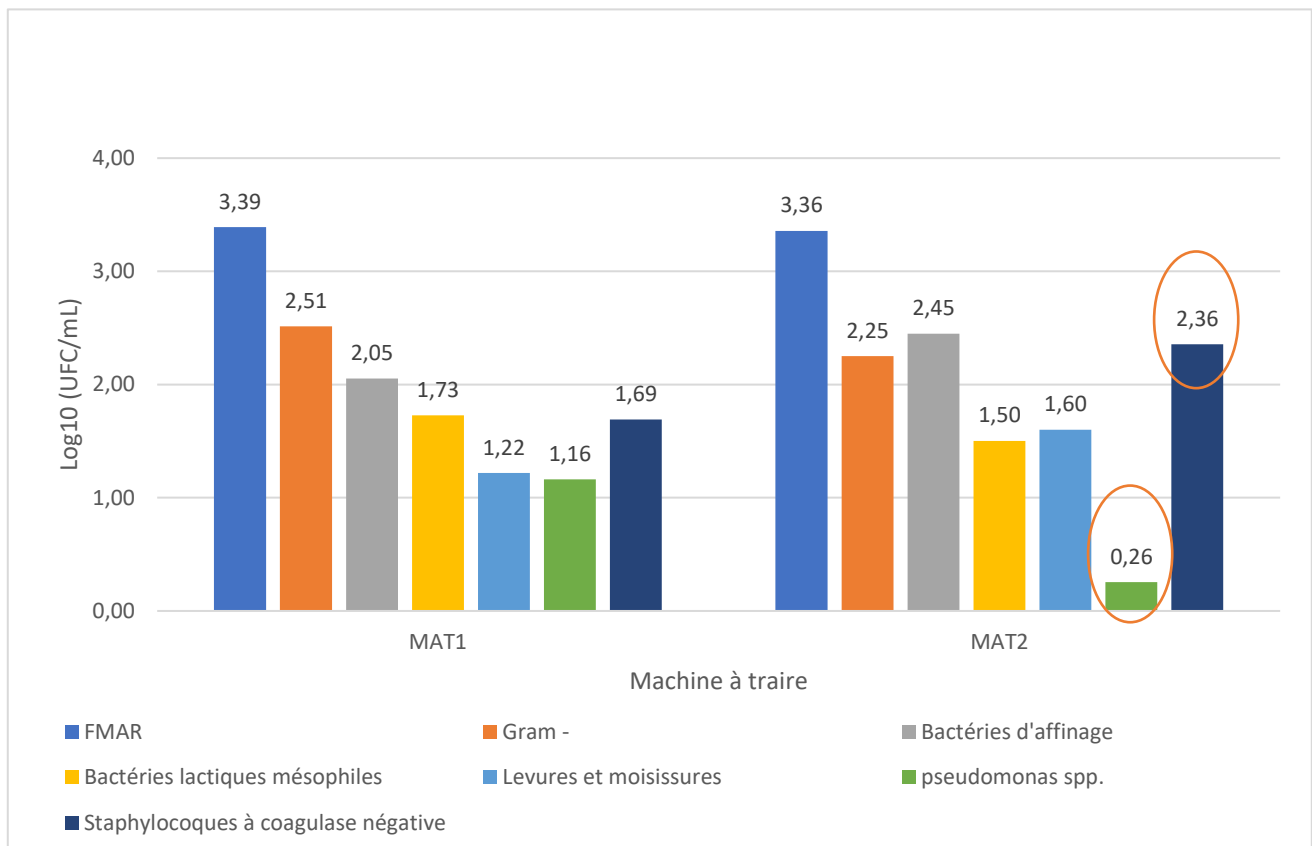


Figure 3 : Dénombrement en microflores des laits UHT mis en circulation dans la MAT 1 et la MAT 2 au départ de l'essai (08/08/22 ; n=1)

Sur les graphiques, ne seront pas représentés le dénombrement de *E. Coli*, des entérocoques, des bactéries thermorésistantes, et des staphylocoques à coagulase positive car les résultats étaient inférieurs au seuil de détection : moins de 1 log(UFC/mL) Par ailleurs, *Listeria monocytogenes* n'a jamais été détectée dans toutes les analyses effectuées.

Les niveaux de microflores entre les deux MATs sont comparables à l'exception des *Pseudomonas spp* qui sont à des niveaux plus élevés dans la MAT1 que dans la MAT2 au départ, de même que le niveau de staphylocoques à coagulase négative est plus important dans la MAT2 que dans la MAT1.

Pour chaque microflore, la moyenne avant et après l'incident de nettoyage a été faite pour comprendre l'évolution du dénombrement de chaque microflore tout au long de l'essai dans chaque MAT. Les valeurs initiales avant essai sont également indiquées.

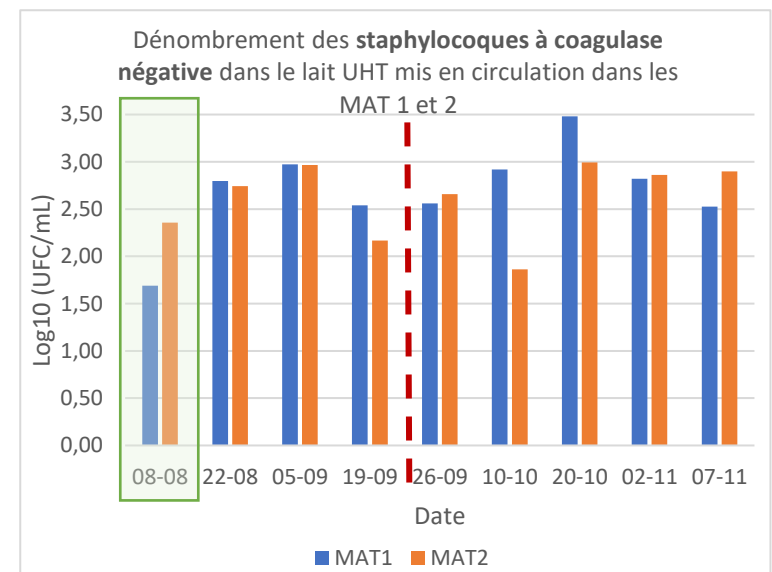
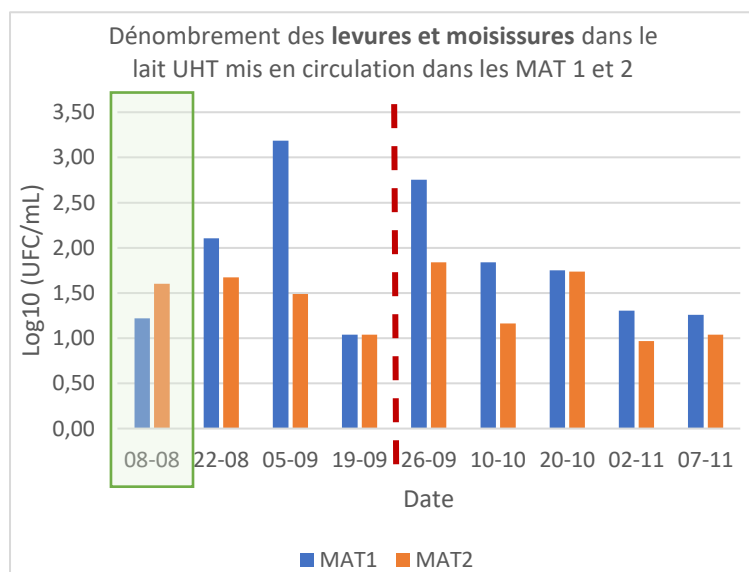
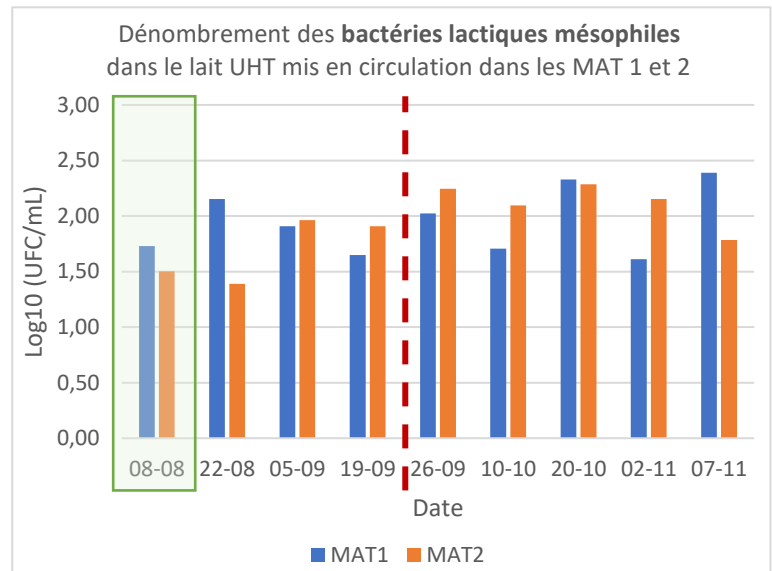
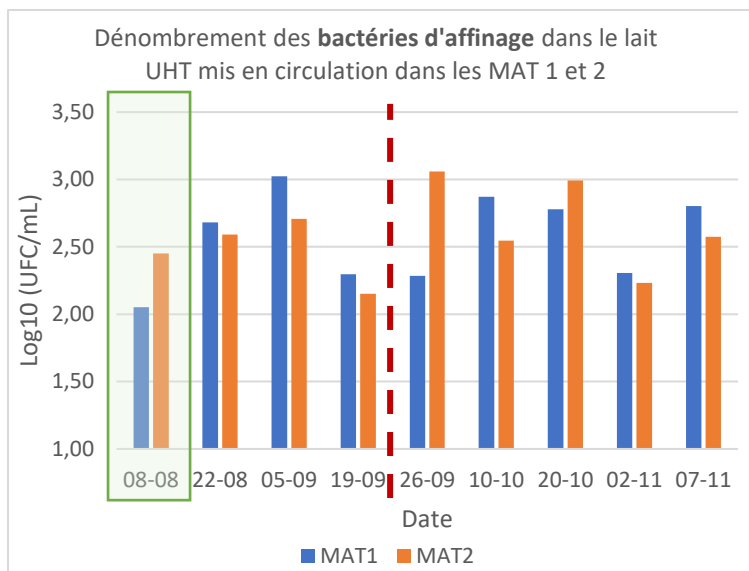
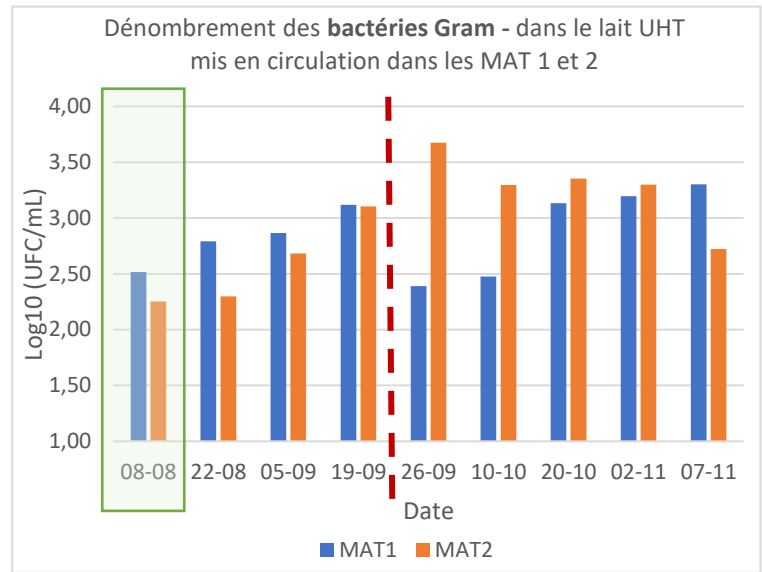
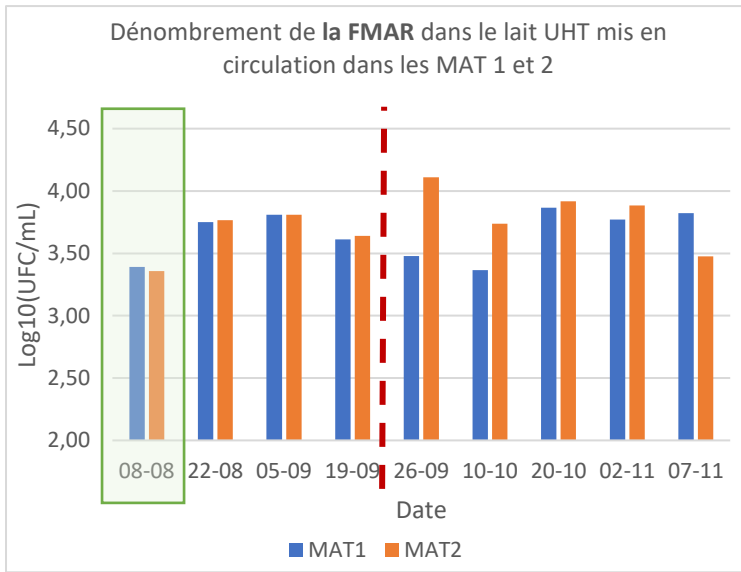
Moyennes en log₁₀(UFC/mL)

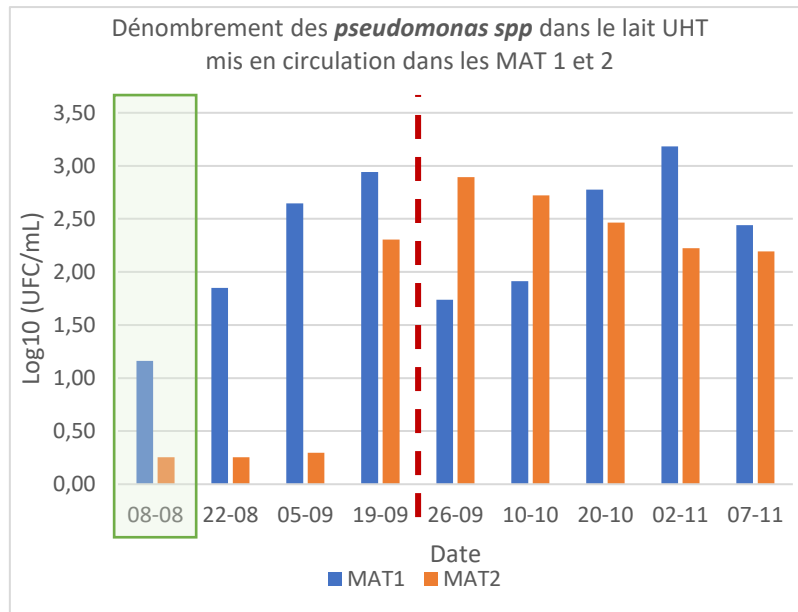
		Valeurs initiales (avant essai ; n=1)	Avant incident (n=3)	Après incident (n= 5)	Différence avant et après incident
FMAR	MAT1	3,39	3,72	3,66	-0,06
	MAT2	3,36	3,74	3,82	+0,09
Gram -	MAT1	2,51	2,93	2,90	-0,03
	MAT2	2,25	2,70	3,27	+0,57
Bactéries d'affinage	MAT1	2,05	2,67	2,61	-0,06
	MAT2	2,45	2,48	2,68	+0,20
Bactéries lactiques mésophiles	MAT1	1,73	1,90	2,01	+0,11
	MAT2	1,50	1,75	2,11	+0,36
Levures et moisissures	MAT1	1,22	2,11	1,78	-0,33
	MAT2	1,60	1,40	1,35	-0,05
<i>Pseudomonas spp</i>	MAT1	1,16	2,48	2,41	-0,07
	MAT2	0,26	0,95	2,50	+1,55
Staphylocoques à coagulase négative	MAT1	1,69	2,77	2,86	+0,09
	MAT2	2,36	2,63	2,65	+0,03

Logiquement, on observe plus d'évolution pour la MAT2 que dans la MAT1. On constate une augmentation des *Pseudomonas spp* entre le début de l'essai jusqu'à l'incident et ensuite une forte augmentation après l'incident. Ainsi, même si la MAT 2 présentait des niveaux plus bas en *Pseudomonas spp* au départ, ceux-ci ont fini par atteindre les mêmes niveaux que la MAT 1 en fin d'essai. Nous allons voir flore par flore les évolutions à l'aide de graphiques individuels.

La barre en pointillée rouge représente la bascule entre les analyses faite avant le début de l'incident de nettoyage et les analyses faites après la fin de l'incident de nettoyage. Le rectangle vert représente les valeurs initiales en dénombrement de microflore, c'est-à-dire, les analyses faites avant le début de l'essai.

Dénombrement de chaque microflore présente dans le lait UHT mis en circulation dans les MAT





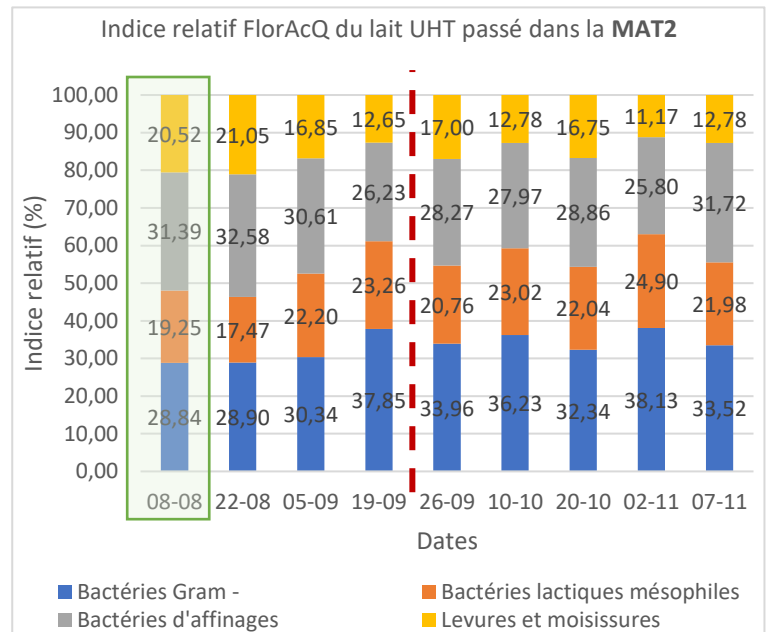
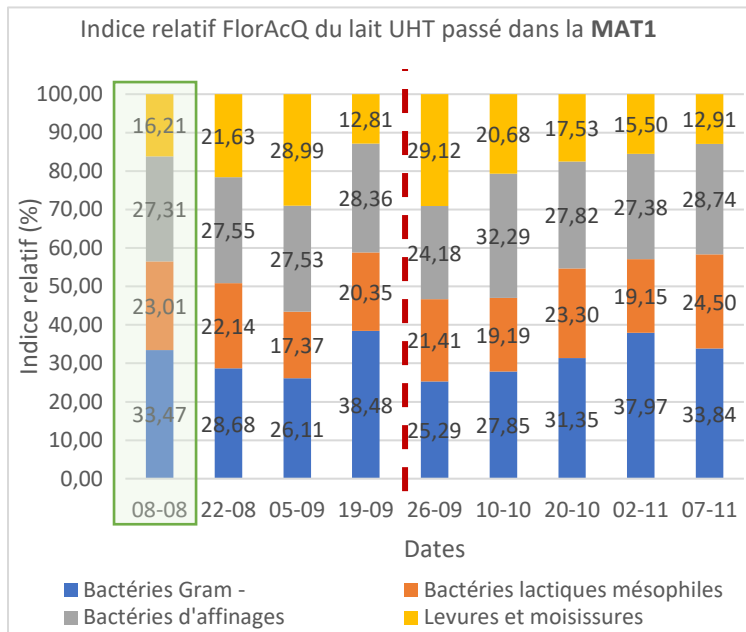
Figures 4 à 10 : Dénombrements de chaque microflore présente dans le lait UHT mis en circulation dans les MAT

Les graphiques indiquent en $\log_{10}(\text{UFC}/\text{mL})$ la quantité des microflores présentes selon leur nature en fonction des différents moments de prélèvement.

On observe peu de différences entre les 2 protocoles. En effet, la variabilité des différentes flores au cours du temps ne semble pas plus faible que celle entre les 2 MAT. On observe cependant une augmentation brutale de la quantité de *Pseudomonas spp* dans la MAT2 qui subit le simple rinçage le soir juste avant l'incident pour rester à des niveaux stables et élevés ensuite (au-delà de 2 log UFC/ml alors que le niveau de départ était de 0.26 log(UFC/mL)). En comparaison, le niveau de *Pseudomonas spp* dans la MAT 1 déjà plus élevé au départ (1,16 log (UFC/mL)) a augmenté progressivement jusqu'à atteindre 3 log UFC/ml avant l'incident pour fluctuer ensuite entre 1,7 et plus de 3 log UFC/ml.

En conclusion, sur une période 12 semaines, l'application d'un protocole de nettoyage avec un simple rinçage de la machine à traire après la traite du soir n'a pas induit d'évolution de la plupart des types de microflores mobilisables dans la machine à traire mesurées. On peut noter cependant une élévation du niveau de *Pseudomonas spp* présent dans la machine alors qu'on a également un niveau élevé dans la MAT témoins

Indice FlorAcQ



Figures 11 et 12 : Indices relatifs FlorAcQ

Les graphiques indiquent en pourcentage (%) la proportion des microflore présentes selon leur nature. En ordonnée, une échelle de temps permet de repérer le moment du prélèvement.

On observe peu de différences des équilibres de microflore entre les 2 protocoles. En effet, la variabilité des différentes flores au cours du temps ne semble pas plus faible que celle entre les 2 machines à traire. On observe juste une petite diminution de la proportion de levures et moisissures au cours du temps dans les deux machines à traire.

Lait cru premier bol

L'évolution de la flore totale dans le lait cru premier bol a été suivi tout au long de l'essai et nous donne le graphique ci-après.

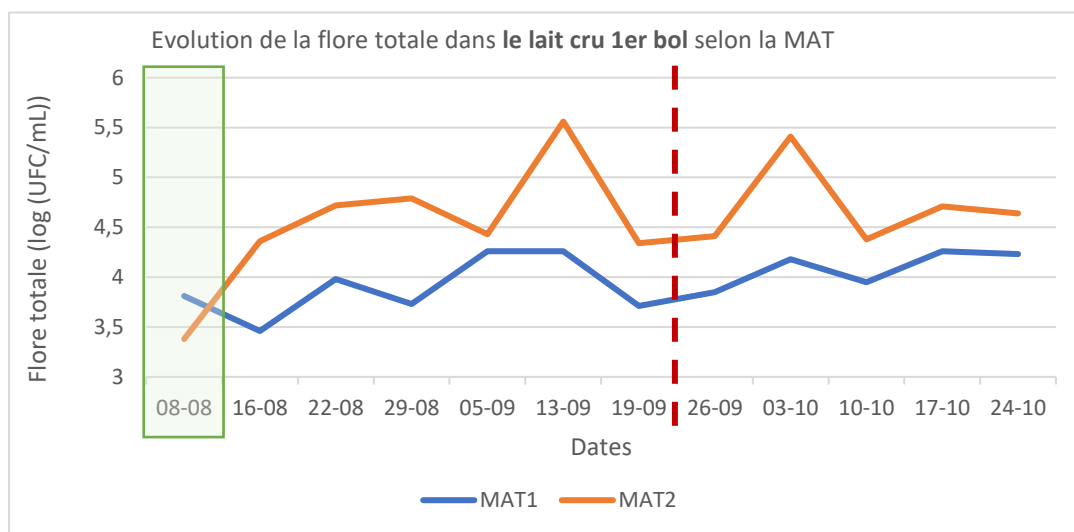


Figure 13 : Evolution de la flore totale présente dans le lait cru premier bol durant l'essai

Les graphiques indiquent en $\log_{10}(\text{UFC}/\text{mL})$ la quantité de flore totale présente dans le lait cru. En ordonnée une échelle de temps permet de repérer le moment du prélèvement.

On remarque que le niveau initial de flore totale dans le lait cru premier bol est inversé entre les deux MAT par rapport aux analyses suivantes. L'évolution de la flore totale suit la même allure dans les deux MATS mais le niveau de FMAR du lait issu de la MAT 2 est constamment supérieur à celui de la MAT1. On n'observe pas d'effet de l'incident de nettoyage sur la MAT2, la courbe d'évolution de la flore totale du lait issu de la MAT2 suivant la même tendance que celle de la MAT1 en conservant le même écart.

Quelques données clefs en le tableau ci-dessous, pour compléter le graphique précédent :

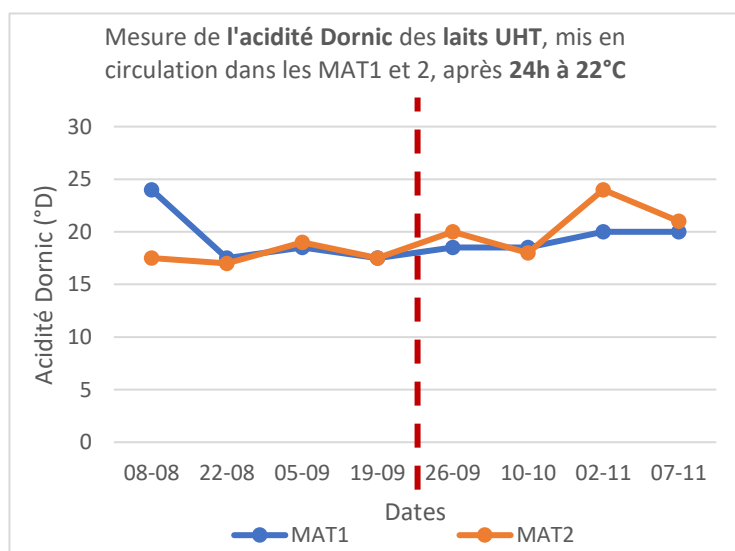
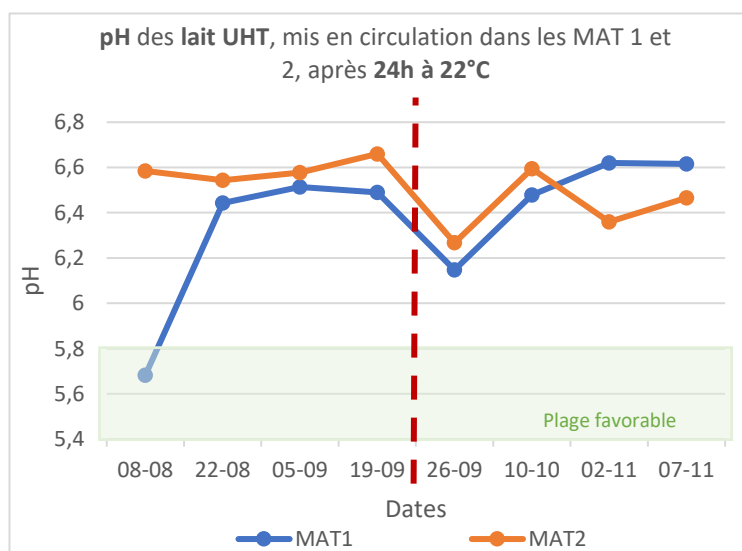
	Niveau initial	Moyenne avant incident	Moyenne après incident
MAT1	3,81	3,90	4,09
MAT2	3,38	4,70	4,71

En conclusion, sur une période 12 semaines, l'application d'un protocole de nettoyage avec un simple rinçage de la machine à traire après la traite du soir a induit une augmentation de plus d'un log/ml de la flore totale du lait cru premier bol. L'incident de nettoyage n'a pas eu d'effet sur ce niveau en flore totale.

2. Etude de l'incidence de la procédure testée sur la fromageabilité du lait

Suivi des lactofermentations des laits UHT

Des mesures de pH et d'acidité Dornic ont été prises pendant les lactofermentations. Des graphiques de l'évolution des pH et des acidités Dornic après 24h à 22°C tout au long de l'essai ont été produits.



Figures 14 et 15 : Suivi du pH du lait UHT à gauche et de l'acidité Dornic à droite

En ce qui concerne le pH à 24H des lait UHT passés dans les MAT, on remarque que celui est bien au-dessus de la plage favorable d'acidification des laits. Si on observe les valeurs initiales de chaque machine à traire en début d'essai on constate que la MAT1 avait un lait plus acidifiant que la MAT2. Ensuite, l'aptitude acidifiante des deux laits est équivalente et est très faible dans les deux cas (valeurs pH élevées).

Pour l'acidité Dornic, on constate aussi que celle-ci est bien inférieure à la plage favorable qui se situe entre 30°D et 65°D. Il n'y a pas d'effet protocole de nettoyage ni d'effet de l'incident de nettoyage sur les résultats.

En conclusion, l'application d'un protocole de nettoyage avec un simple rinçage de la machine à traire après la traite du soir et l'ajout d'un incident de nettoyage en cours d'essai n'ont pas induit d'effet particulier au niveau de l'aptitude acidifiante des microflores des biofilms mobilisables de la MAT mesurée après 24H d'incubation des laits UHT mis en circulation dans la MAT.

La cinétique d'acidification des laits UHT mis en circulation dans chaque MAT a été suivie lors des lactofermentations. Deux graphiques ont été analysés : un qui compare les courbes en début et en fin d'essais (fig 16) et un second qui compare les courbes avant et après l'incident de nettoyage (fig 17) (moyenne des valeurs obtenues).

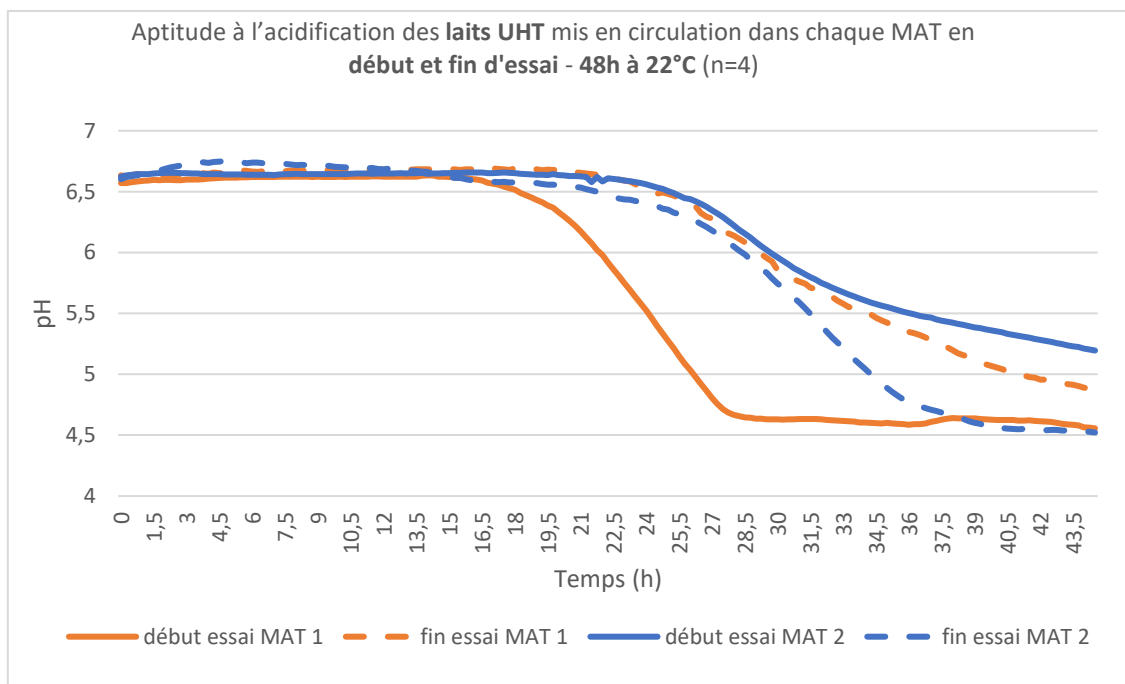


Figure 16 : Suivi de la cinétique d'acidification des laits UHT mis en circulation dans les MAT en début et fin d'essai

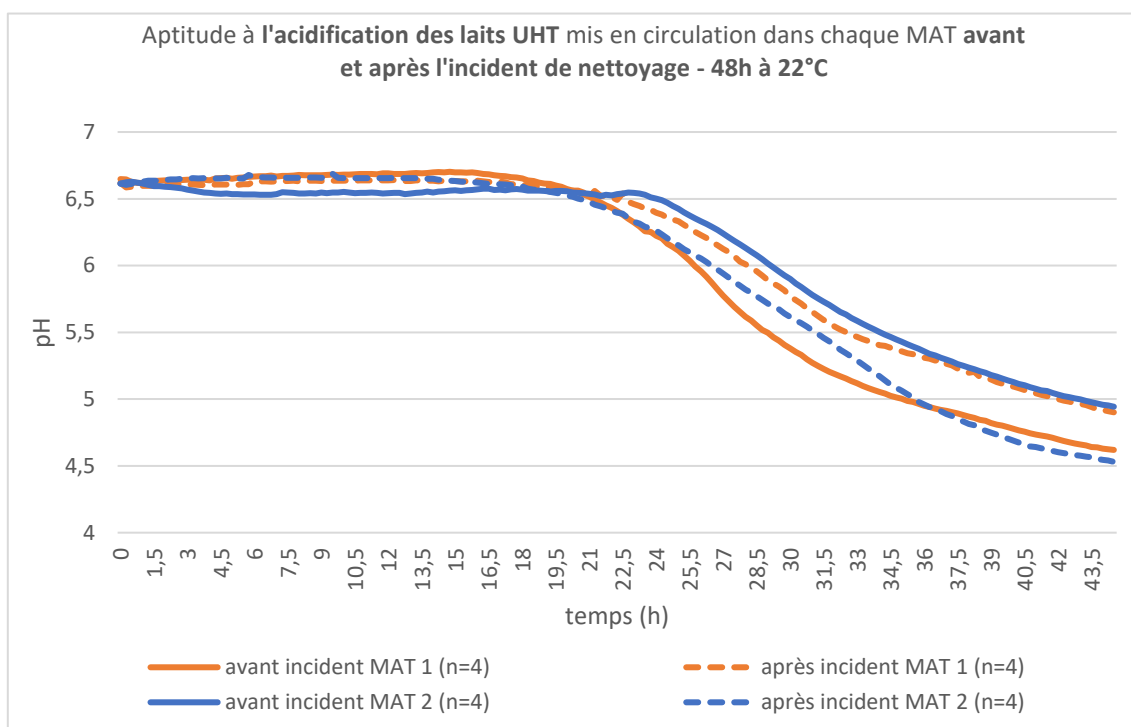


Figure 17 : Suivi de la cinétique d'acidification des laits UHT mis en circulation dans les MAT avant et après incident

Sur le premier graphique (fig 16), on constate que l'acidification de la MAT1 en début d'essai se faisait plus rapidement et était plus importante en fin d'incubation (pH plus élevé) par rapport à la MAT 2. On observe ensuite une inversion en fin d'essai, les laits de la MAT 2 présentant une acidification plus rapide et plus importante en fin d'incubation. Les différences entre avant et après incident (fig 17) sont difficiles à interpréter car on observe aussi une évolution au niveau de la MAT 1 qui n'a pas été soumise à un incident.

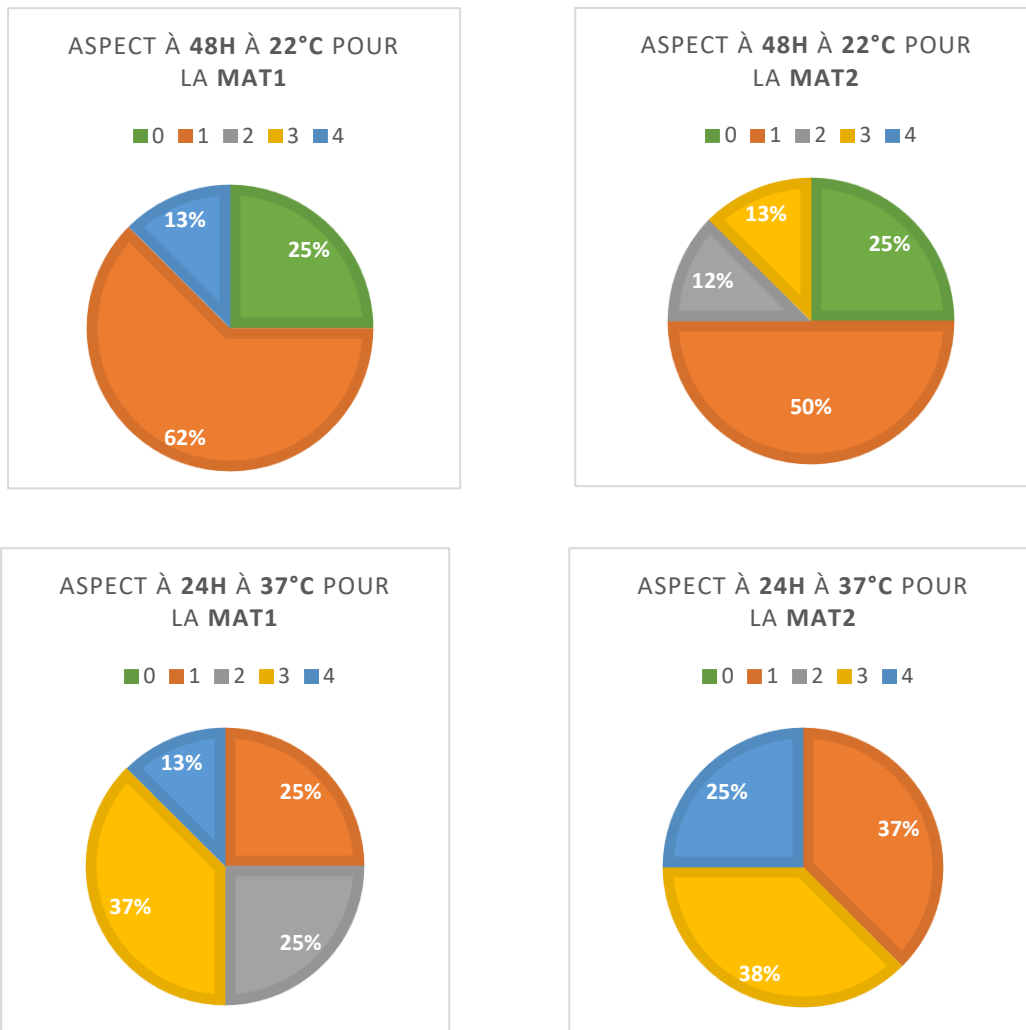
Il semble que le protocole de nettoyage avec un simple rinçage le soir favorise l'aptitude à l'acidification des microflores des biofilms présentes dans la MAT, mais cette aptitude acidifiante mesurée après 24H d'incubation à 22°C reste faible.

Aspect des gels

Pendant les lactofermentations, l'aspect des gels a été décrit à 24h puis à 48h, le tableau ci-après permet de mieux comprendre les scores attribués.

Classement	Signification
0	Liquide
1	Gel homogène
2	Gel spongieux avec des bulles difformes
3	Gel floconneux avec beaucoup de sérum
4	Caillé digéré, odeur d'épluchure de pomme de terre

Une fois les scores attribués, on obtient les camemberts suivants pour les deux MAT selon le protocole de lactofermentations appliqué.



Figures 18 à 21 : Scores sur l'aspects des gels à différents temps et températures pour chaque MAT

Il faut prendre des précautions d'interprétation avec les mesures à 48°C car il y a un risque de contamination. Pour ces laits UHT mis en circulation dans la MAT incubés à 22°C pendant 48H, on observe un peu plus de gels floconneux et moins de laits liquides dans la MAT2.

Les aspects des gels mesurés à 24H lors des lactofermentations à 37°C sont plus fiables à interpréter. On observe plus de gels spongieux avec des bulles dans la MAT1, ce qui est souvent lié à la présence de coliformes mais ceux-ci n'ont pas été dénombrés dans l'étude. La proportion de gel digéré est un peu plus importante pour la MAT 2 mais il y a aussi plus de laits restés liquides. Il est donc difficile de conclure sur un quelconque effet.

Fabrication du Picodon AOP

Dans le cadre de cet essai, un suivi de fabrication sur les Picodon AOP a été fait, plusieurs indicateurs ont été relevés tout au long du suivi.

Pour la fabrication, une certaine quantité de lait cru a été utilisé spécifiquement et trois répétitions (R1, R2, R3) ont été faites durant la semaine de fabrication.

Le suivi de l'acidification des laits crus utilisés pour chaque répétition et chaque MAT a été fait. On obtient les courbes suivantes :

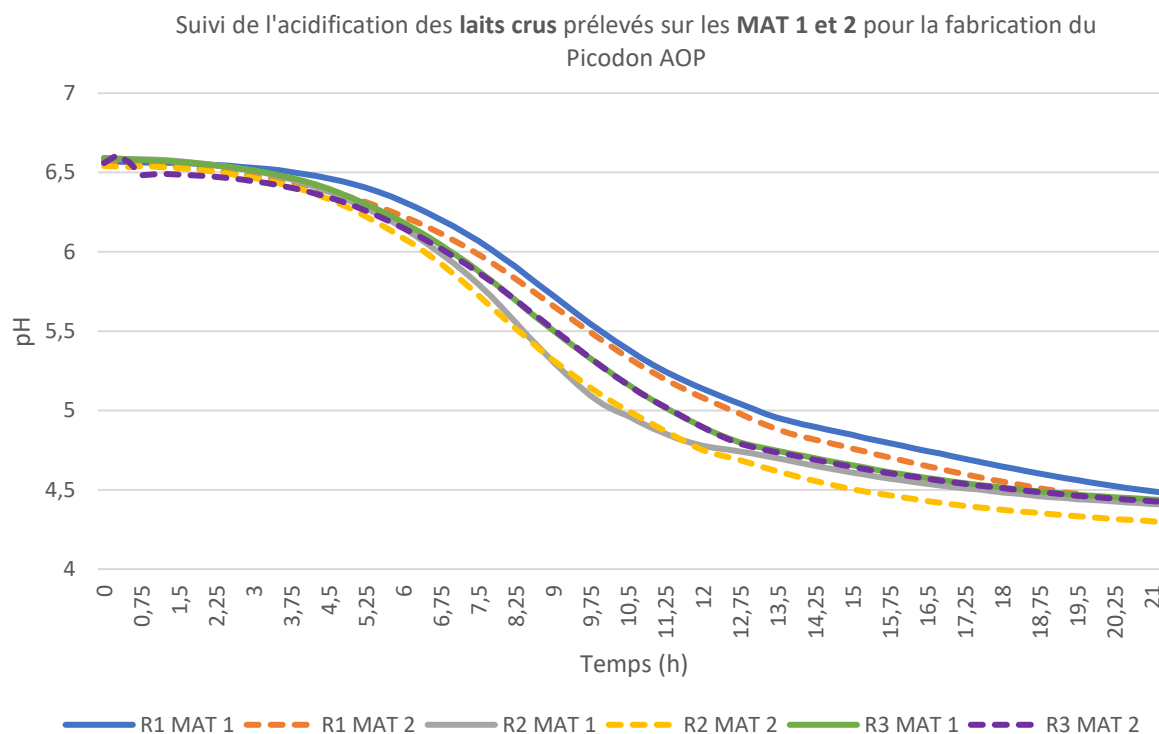


Figure 22 : Suivi de l'acidification des laits crus sur les MAT

On observe sur ce graphique (fig 22) qu'il n'y a que très peu de différence d'une MAT à l'autre. Pour chaque R, les deux courbes des MAT se suivent de très près. On observe cependant des valeurs de pH en fin d'acidification plus faibles pour les laits de la MAT 2 dans deux répétitions sur les trois :

		pH en fin d'acidification
R1	MAT1	4,48
	MAT2	4,41
R2	MAT1	4,41
	MAT2	4,29
R3	MAT1	4,44
	MAT2	4,42

Par ailleurs, on observe de légères différences entre répétitions mettant en évidence un petit effet du jour de fabrication. Ces différences pourraient notamment s'expliquer par les températures de fabrication. Dans le tableau ci-dessous, sont notés les températures du lait au moment de l'ensemencement ainsi que du lactosérum, les différences sont faibles :

	Ensemencement- emprésurage (°C)	Lactosérum (°C)
R1	18,6	21,3
R2	19,2	20,9
R3	19	20,5

D'autres éléments ont été annotés tout au long de la fabrication des fromages et notamment d'acidité Dornic du lactosérum. Le graphique ci-dessous présente l'acidité du lactosérum du lait cru selon la répétition et la MAT.

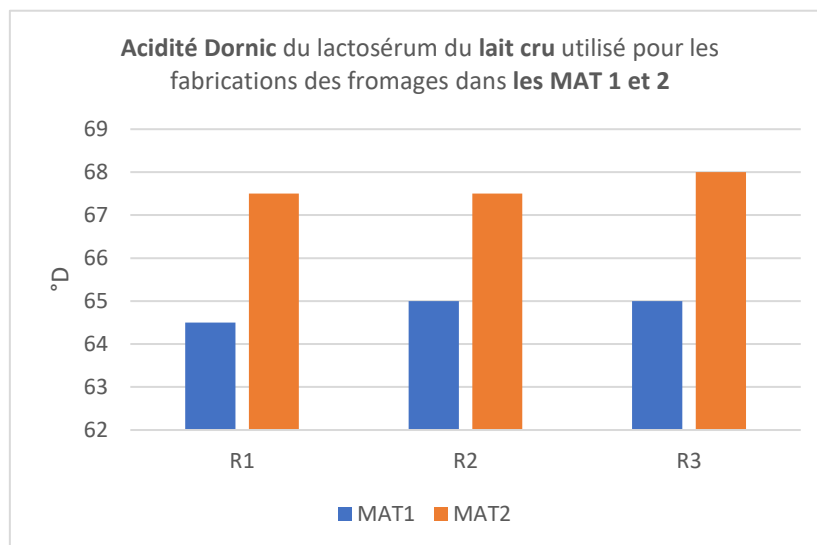


Figure 23 : Acidité Dornic du lactosérum du lait cru

On remarque que l'acidité Dornic des lactosérums de lait cru de la MAT2 sont toujours supérieurs de 3°D par rapport à la MAT1, ce qui est cohérent avec les valeurs de pH plus faibles relevées en fin d'acidification. On ne retrouve pas ces différences dans les pH au démoulage

Indications sur le moulage – salage – ressuyage :

		pH démoulage	Rendement fromager	Moyenne rendement fromager
MAT1	R1	4,38	26,3	25,91
	R2	4,26	25,6	
	R3	4,26	25,8	
MAT2	R1	4,35	26,7	26,07
	R2	4,27	25,7	
	R2	4,28	25,9	

Le tableau donne d'autres indicateurs relevés durant le suivi de fabrication. On ne remarque pas de différence entre les deux MAT pour les pH de démoulage et le rendement fromager

Les derniers indicateurs relevés pour le suivi de fabrication sont l'aspect, la couleur, les flores de surface, des fromages issus de ces fabrications. aucun élément particulier n'a été relevé. Il n'y a pas de différence entre les répétitions ou les MAT.

En conclusion, l'application d'un protocole de nettoyage avec un simple rinçage de la machine à traire après la traite du soir et l'ajout d'un incident de nettoyage en cours d'essai ont induit en descriptif des acidifications légèrement plus importantes en fin de phase de caillage sans que ça n'ait d'incidence sur les autres étapes de fabrication et l'aspect final du Picodon AOP.

3. Etude de l'incidence de la procédure testée sur le fonctionnement fin de la machine à traire

Afin d'étudier l'incidence d'un simple rinçage le soir sur le fonctionnement de la machine à traire, diverses mesures ont été prises. Une intervention Net'Traite® en tout début d'essai sur chaque MAT a été effectué afin d'observer les différences qu'il pourrait y avoir entre les deux MAT. En début et en fin d'essai des Dépos'Traite® ont été réalisés afin de comprendre les changements qui ont pu se produire durant (s'il y en a eu) et entre les deux MAT.

Net'Traite®

Quelques différences entre les deux machines à traire peuvent être relevées sur les Net'Traite®. Pour la MAT2 on a plus de produit NED (+130mL) par rapport à la MAT1 et donc une concentration plus importante de la solution. On a 430 mL de produit utilisé pour la MAT2 contre 300 mL de produit utilisé dans la MAT1 pour une concentration pour la MAT2 à 0,72% contre 0,5% pour la MAT1 sachant que le même produit est utilisé dans les deux machines et que la préconisation est à 0,5%.

En début de lavage de la MAT2, la température de sortie robinet est de 3°C supérieure par rapport à la MAT1. Après 2 min, on a une chute de 10°C pour finir avec 6°C de plus pour la MAT2 par rapport à la MAT1. Ce résultat n'est pas forcément cohérent avec l'aspiration d'air dans la machine qui dure 1 seconde de moins pour la MAT2. Si l'aspiration d'air est plus courte alors le refroidissement devrait être moindre.

En ce qui concerne les niveaux de vide, on a 5,8kPa de variation de vide Vr en plus pendant la turbulence pour la MAT2. On peut supposer qu'il y a plus de turbulence dans cette MAT. On peut aussi supposer que cette différence est dû à un niveau de vide beaucoup plus bas dans la MAT2.

Toutes ces informations nous donnent quelques indications de départs sur les différences existantes entre les deux MAT avant l'essai, pouvant en partie expliquer des différences de microbiologie observées entre les deux MAT

Dépos'Traite®

Pour les Dépos'traite, moins de différences ont été relevées. Les durées de cycle ont été modifiées entre avant et après l'essai, sur la MAT1 notamment, on a perdu 8 secondes. Pour la MAT2, on a eu une perte de 2 secondes par rapport à la MAT1 entre avant et après l'essai. Toutefois, ces éléments ne sont pas d'une importance significative.

En conclusion l'application d'un protocole de nettoyage avec un simple rinçage de la machine à traire après la traite du soir et l'ajout d'un incident de nettoyage en cours d'essai n'ont pas induit d'effet particulier sur le fonctionnement de la machine à traire.

V. Conclusion

Le projet APNEE, dans la continuité du projet CMAFLAuRA, avait pour but de faire des essais sur une méthode de nettoyage simplifiée de la machine à traire sur une période allongée. La méthode de nettoyage choisie a été le simple rinçage à l'eau froide le soir sur une période de 12 semaines d'essai. De plus, un incident de nettoyage a été ajouté pendant l'essai, il s'agissait d'un arrêt du chauffe-eau entraînant un nettoyage à l'eau froide. Quelques aléas ont entraîné des modifications de l'essai qui a été allongé de 2 semaines.

Différentes mesures microbiologiques sur le lait UHT et le lait cru premier bol ainsi que des lactofermentations ont été faites afin de comprendre l'impact du simple rinçage le soir avec un incident de nettoyage sur le biofilm de la machine à traire. De même, des mesures sur l'incidence de cette procédure sur la fromageabilité et le fonctionnement de la machine à traire ont été effectués.

Finalement, dans les conditions de la ferme expérimentale du Pradel (installation récente et bien conçue), les résultats ont montré que le simple rinçage le soir ainsi qu'un incident de nettoyage (simulation d'une panne de chauffe-eau) avaient peu d'impact sur la plupart des dénombrements de microflores mobilisables des biofilms de la MAT qui ont été étudiées en comparaison d'une procédure classique (alternance acide/alcalin chloré : 6 base/1 acide) . On peut cependant noter une augmentation de la présence des *Pseudomonas spp* même si ceux-ci sont retrouvés également dans la MAT témoin. On observe par ailleurs une légère amélioration de l'aptitude acidifiante des flores des biofilms mais qui reste cependant faible par rapport à des références obtenues dans des études antérieures. Les laits crus premier bol présentent des niveaux de flores totales comparativement plus importants (de l'ordre du log/ml). Ces différences sur le lait semblent induire des acidifications légèrement plus importantes en fin de caillage sans que ça modifie les étapes de fabrication suivantes et le Picodon AOP. Il n'y a pas eu par ailleurs d'effet sur le fonctionnement de la machine à traire

Le même type de suivi avait été mené dans CMAFLAuRA sur 6 semaines. On retrouve dans les deux cas une tendance à l'augmentation des niveaux en *Pseudomonas spp* alors que les autres microflores mobilisables des biofilms de la MAT ne semblent pas impactées (coliformes non dénombrés dans APNEE). La tendance à l'amélioration des aptitudes acidifiantes des flores des biofilms dans APNEE avait déjà été mise en évidence dans l'essai de 6 semaines et les flores totales des laits premier bol n'avaient pas été mesurées rendant la comparaison impossible. Avec une durée d'essai allongée, cette meilleure aptitude acidifiante des flores des biofilms se traduit dans APNEE par des acidifications un peu plus importantes en fin de caillage, ce qui n'était pas le cas dans CMAFLAuRa. Dans les deux cas, les étapes de fabrication suivantes et le Picodon AOP n'ont pas subi de modifications.

Cette procédure peut ainsi permettre de favoriser l'ensemencement en microflores pour l'acidification mais le risque d'augmentation des *Pseudomonas spp* est présent comme CMAFLAuRA et d'autres études ont pu le montrer par le passé. Il convient par ailleurs de rappeler que ceci a été testé sur une MAT récente et bien conçue et malgré l'incident de nettoyage simulé, le risque est donc sûrement plus important dans des conditions moins favorables. Il convient donc de la mettre en place dans des situations de départ bien maîtrisées.

Collection
Résultats

Edité par :
l'Institut de l'Élevage
149 rue de Bercy
75595 Paris Cedex 12
www.idele.fr
Mars 2023

Dépôt légal :
1e trimestre 2023
© Tous droits réservés
à l'Institut de l'Élevage
Réf. 00 23 404 002
ISSN 1773-4738



APNEE : Approfondissement des Protocoles expérimentaux en vue d'une utilisation de l'installation de traite de la ferme caprine du Pradel pour répondre aux enjeux environnementaux, sanitaires et technologiques autour des procédures de NETtoyage Et désinfection

Rapport final - Période de réalisation : 2022

Le projet APNEE, dans la continuité du projet CMAFLAuRA, avait pour but de tester une méthode de nettoyage simplifiée de la machine à traire sur une période allongée à la ferme expérimentale caprine du Pradel. La méthode de nettoyage choisie a été le simple rinçage à l'eau froide le soir sur une période de 12 semaines d'essai. De plus, un incident de nettoyage a été ajouté pendant l'essai, il s'agissait d'un arrêt du chauffe-eau entraînant un nettoyage à l'eau froide pendant plusieurs traites. Des mesures ont été prises afin de comprendre l'incidence de cette procédure de nettoyage différenciée sur le biofilm, le fonctionnement de la machine à traire, et sur la fromageabilité du lait. On a pu remarquer une tendance à l'augmentation des niveaux de *Pseudomonas spp* présents dans les microflore mobilisables des biofilms de la machine à traire ainsi qu'une légère amélioration de l'aptitude acidifiante des microflore des biofilms. Cette procédure peut ainsi permettre de favoriser l'ensemencement en microflore pour l'acidification mais le risque d'augmentation des *Pseudomonas spp* est présent comme CMAFLAuRA et d'autres études ont pu le montrer par le passé. La procédure a été testée sur une MAT récente et bien conçue et malgré l'incident de nettoyage simulé, le risque peut donc sûrement plus important dans des conditions moins favorables. Il convient donc de la mettre en place dans des situations de départ bien maîtrisées.

Avec le soutien financier :



Contact :

gaelle.coquereau@idele.fr
cecile.laithier@idele.fr

Mars 2023

Réf. 00 23 404 002
ISSN 1773-4738

www.idele.fr

