

Journée Découverte de PiloTraite *Atelier biofilms : formation, constitution, facteurs d'influence, résultats PiloTraite*

Le 12 mai 2022 à Derval (44)

Cécile Laithier¹ et Alice Hubert¹, Hélène Tormo² et Gwenaëlle Jard²

1



2



Funded by :



Les biofilms de la machine à traire

Introduction sur les biofilms

LA QUALITÉ MICROBIOLOGIQUE DU LAIT & tous ses secrets

Le lait cru est composé de nombreux micro-organismes, qui peuvent être classés en trois types de microflore :

Microflore utile

- Flore acidifiante (bactéries lactiques)
- Flore d'affinage
- Levures
- Moisissures

Transformation du produit
Protection contre microorganismes indésirables
Élaboration de caractéristiques sensorielles

Microflore d'altération

- Flore psychrotrophe (*Pseudomonas* spp)
- Flore thermorésistante (bactéries butyriques)
- Flore coliforme (*E.coli*)
- Levures
- Moisissures

Altération de la qualité sensorielle et technologique du lait

Microflore pathogène

- *Listeria monocytogenes*
- *Salmonella*
- Entérotoxines de *Staphylococcus aureus*
- STEC

Dangereuses pour la santé humaine

LES SOURCES D'ENSEMENCEMENT ?

C'est un environnement qui est propice au développement de **biofilms**.

Le développement de microorganismes est favorisé par :

- la température
- l'humidité
- l'empoussièrement

LES BIOFILMS

Comment se forme un biofilm ?

Source : Brandet et Belkorfainne, 2000

Quésako ?

C'est une communauté pluricellulaire adhérente à une surface, composée de microorganismes.

Ils se structurent dans l'espace en 3D et produisent un mucus appelé matrice qui leur permet de s'engluier et de se protéger.

Quels leviers d'action pour les maîtriser ?

Nettoyage et désinfection de la machine à traire

- Nettoyage avec TACT
- Commencer le nettoyage par un rinçage
- Une désinfection optionnel en fonction des objectifs
- Respecter les températures, les dosages, les durées et la turbulence recommandées
- Veiller à la qualité de l'eau utilisée
- Sécher la plus possible les installations
- Veiller que chaque point bas soit doté d'une purge afin d'éviter l'eau stagnante
- Favoriser l'alternance d'un acide et d'une base en fonction de la dureté de l'eau

LES BIOFILMS SONT SUR TOUTES LES SURFACES. LES MICRO-ORGANISMES PRÉFÈRENT VIVRE À PLUSIEURS, EN PARTICULIER SUR LES SURFACES HUMIDES.

Conception et entretien de la machine à traire

- Privilégier les installations petites et simples
- Favoriser les surfaces non poreuses (inox, verre)
- Avoir un circuit de nettoyage adapté à la machine
- Entretien et renouveler le matériel

La traite

- Éviter les entrées d'air
- Avoir des trayons propres et secs

Travail réalisé dans le cadre d'un projet étudiant
El-Purpan

<https://idele.fr/detail-article/la-qualite-microbiologique-du-lait>

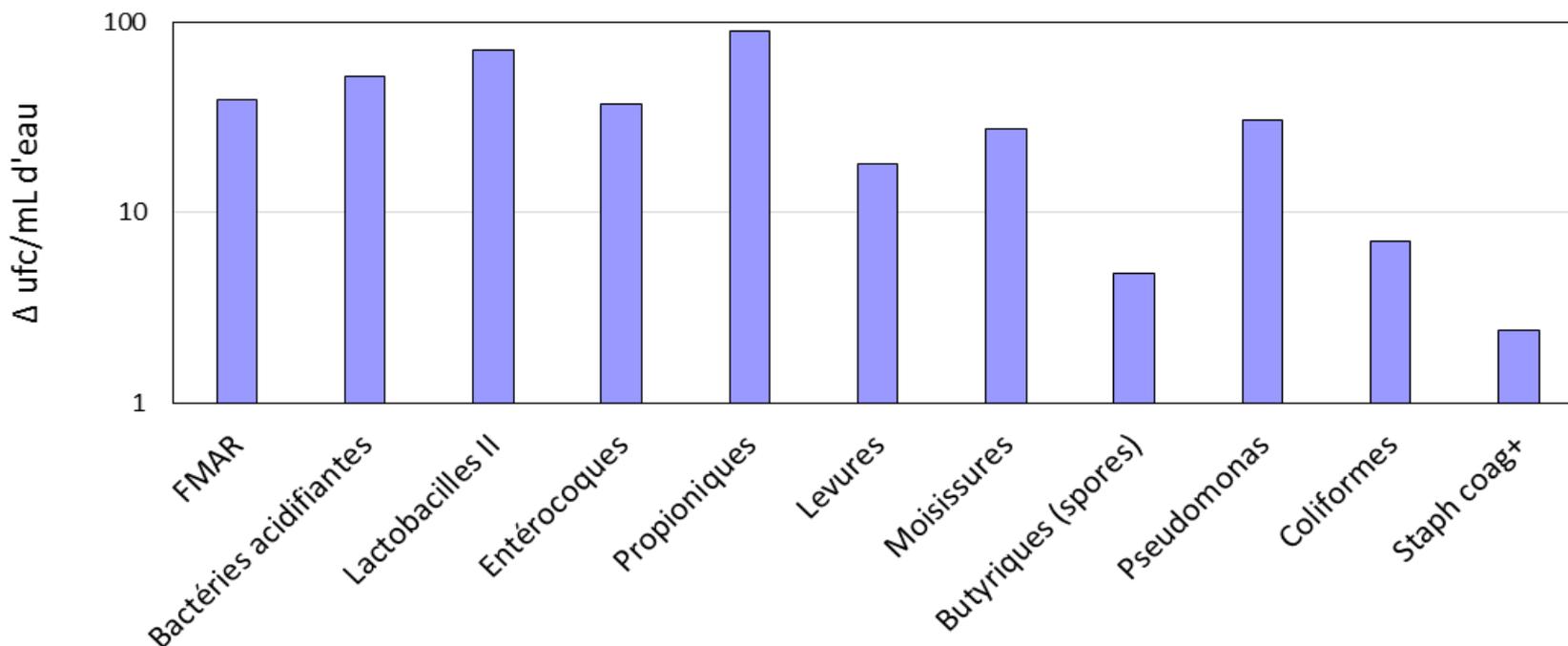
<https://view.genial.ly/5fbb84dd84a2a1619873086d>

Constitution des biofilms de la MAT

| Espèce | Caractéristiques microbiologiques |
|---|--|
| Bovins  | <ul style="list-style-type: none"> Des différences de méthodes selon les études mais globalement, les groupes microbiens indésirables et les groupes microbiens d'intérêt ont des niveaux similaires. |
| Ovins  | |
| Caprins  | |

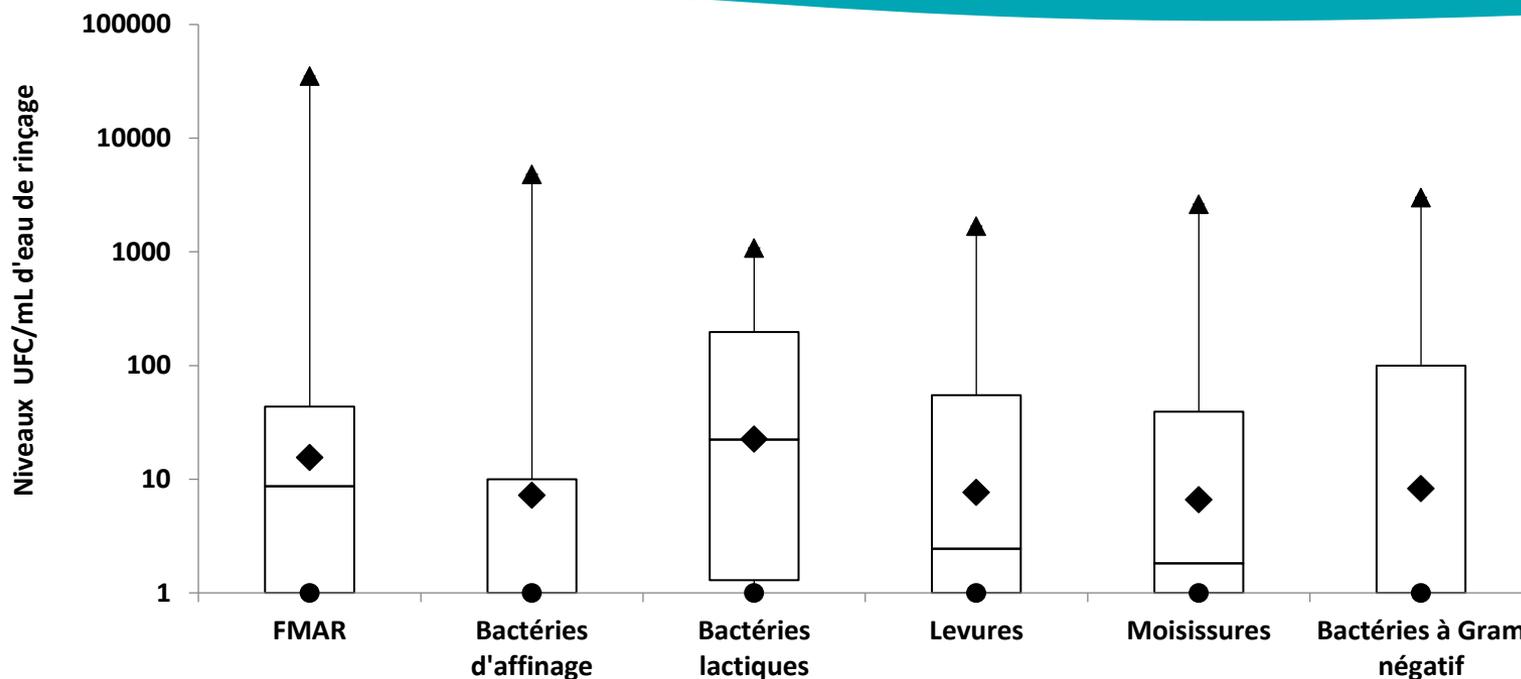
Niveaux des groupes microbiens mobilisables dans le circuit de la machine à traire

(avant la traite du matin, Alpes du Nord, été+hiver, n=58, Michel V. & Convert T., 2009)



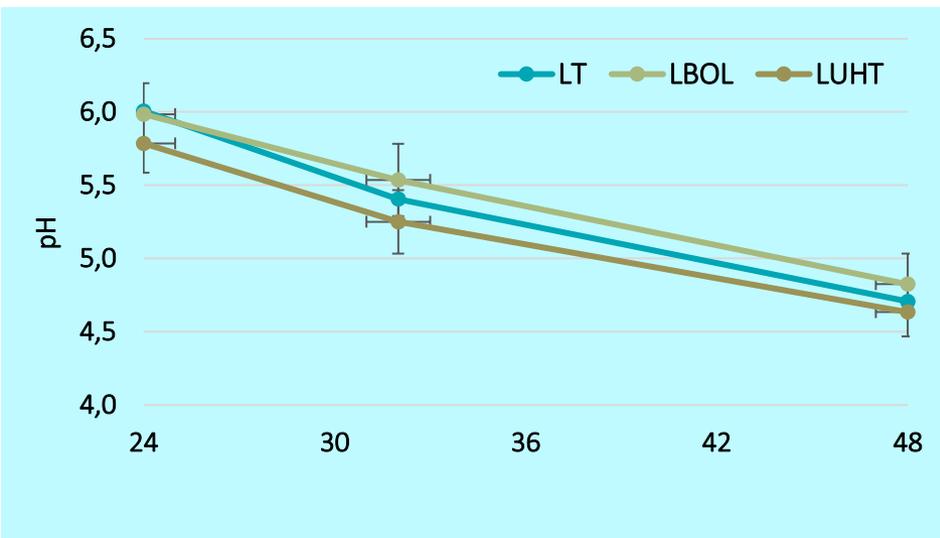
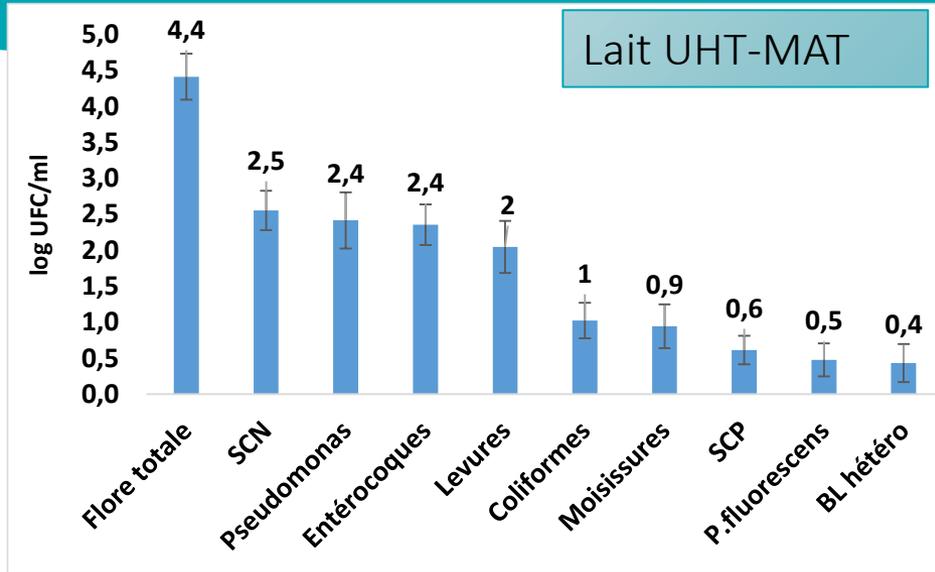
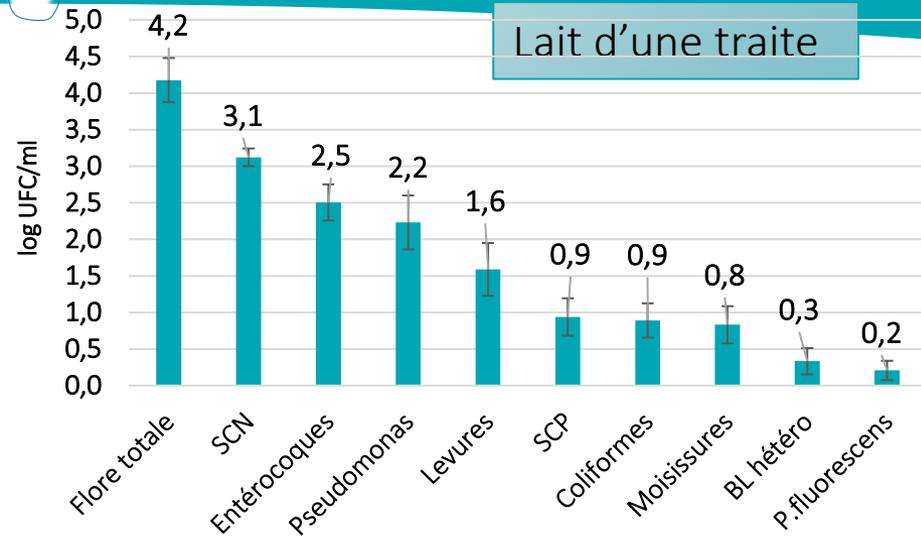
- Communauté microbienne avec des niveaux faibles;
- Les groupes microbiens indésirables et les groupes microbiens d'intérêt ont des niveaux similaires.

Communauté microbienne mobilisable de la machine à traire en élevage ovin



Dispersion des niveaux des groupes microbiens dans l'eau après passage dans le circuit machine à traire (ufc/mL d'eau). (N=24 échantillons, 6 exploitations des Pyrénées Atlantiques).

- La machine à traire est un réservoir de groupes microbiens pouvant potentiellement ensemercer le lait.
- Les niveaux des groupes microbiens d'intérêt technologique (bactéries lactiques) et indésirables (bactéries à Gram-) sont similaires.



Similitudes et différences avec les profils lait d'une traite :

- SCN reste majoritaire mais même niveau que *Pseudomonas spp*, entérocoques, levures
- Coliformes, moisissures et SCP à niveau inférieur
- P. fluorescens* et BL. Hétéro faiblement dénombrés
- Bonne aptitude acidifiante

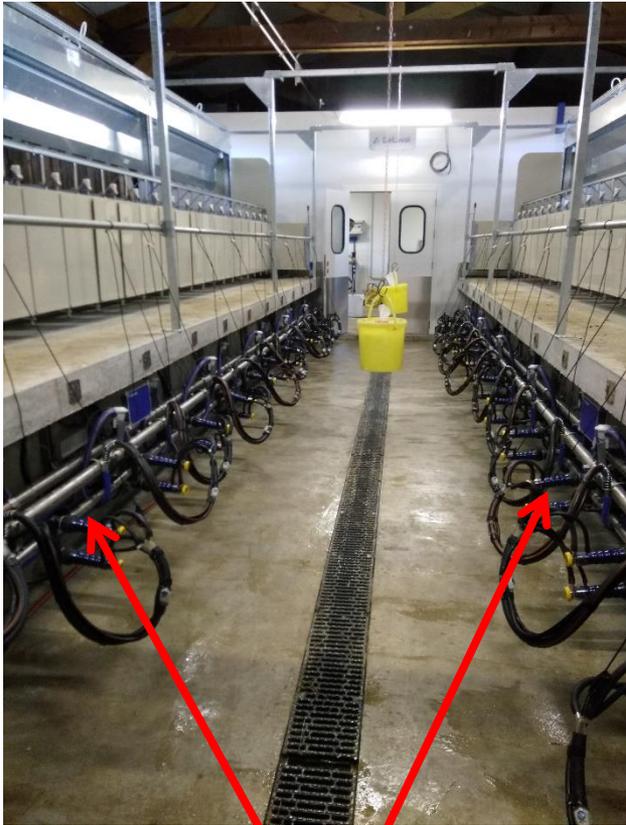
MAT : réservoir majeur de flores acidifiantes mais également de *Pseudomonas spp*

Les facteurs d'influence sur les biofilms

Facteurs d'influence

| Espèce | Principaux facteurs de variation (étudiés surtout en caprins) | |
|---|---|--|
| Bovins  | <ul style="list-style-type: none"> • Conception installation de traite : privilégier installations petites et simples (raccords, joints ... : niches de flores indésirables) • Nature des matériaux : attention parties « plastique » dans lactoducs, en particulier d'évacuation, moins de flores sur silicone/caoutchouc • Entretien et renouvellement du matériel : respect des recommandations et surveiller points à risque (joints...) • Nettoyage du matériel avec TACT et séchage +qualité de l'eau, raisonner l'alternance en fonction de la dureté de l'eau (systématique : peut favoriser les flores d'altération) • La désinfection (en plus de l'alcalin chloré) : appauvrissement en flores et source d'irrégularité du pouvoir d'ensemencement de la MAT → à raisonner au cas par cas selon la situation sanitaire | |
| Ovins  | | |
| Caprins  | | |

Zoom sur CMaflaura



Deux machines à traire totalement indépendantes à la ferme caprine du Pradel

Procédures testées :

- Procédure simplifiée : rinçage le soir
- Produits alternatifs (lessive de soude/vinaigre)
- Alcalins non chlorés
- Désinfection des manchons trayeurs pendant la traite



Avec MAT conçue simplement, entretenue du Pradel sans défaut de nettoyage, pas de problème majeur de microflores et sur fromageabilité

Défaut de température (55-38°C) : Effet négatif sur la transformation fromagère (acidification), probablement du fait du développement observé de microflores indésirables (*Pseudomonas spp*)



Pilotraite complémentaire : travaux en conditions contrôlées

Projet CMAFLAURA



L'implantation de biofilms dans une nouvelle machine à traire

Installation de biofilms dans une nouvelle MAT sous 2 protocoles de nettoyage

Machine à traire test

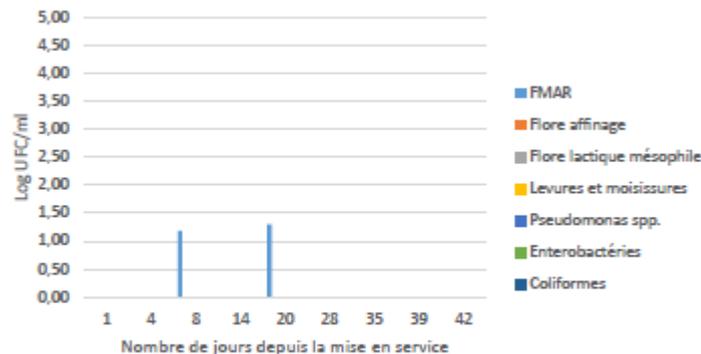
Protocole de lavage alternatif
alcalin NON chloré et acide



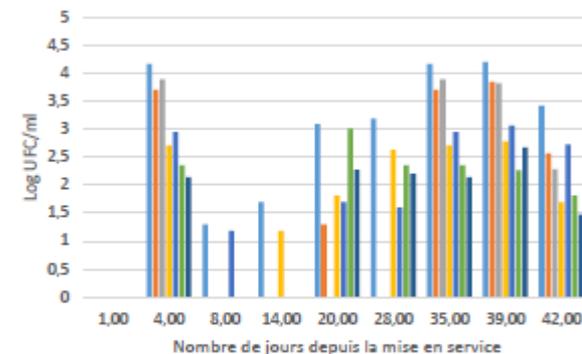
Machine à traire témoin

Protocole de lavage
classique alternatif
alcalin chloré et acide

Evolution des microflores présentes dans le biofilm de la machine à traire nettoyée avec alcalin chloré (n=1)



Evolution des microflores présentes dans le biofilm de la machine à traire nettoyée avec alcalin non chloré (n=1)



Un nouveau prélèvement réalisé à 154 jours après la mise en service des machines à traire montre bien qu'un biofilm s'est formé dans les 2 MAT.

L'implantation de biofilms dans la machine à traire pilote

Conditions d'utilisation du pilote pour étudier les biofilms

Éliminer les biofilms avant chaque expérimentation



Définition de procédures de nettoyage/désinfection

Prélever les biofilms pour les caractériser



Définition de méthodes de prélèvement des biofilms

Implanter les biofilms complexes dans Pilotraite



Définition des procédures d'implantation

1 Caractérisation du biofilm résident



Après nettoyage/désinfection

2 Implantation d'un biofilm complexe à partir de laits



1/ Nettoyage/désinfection
2/ Circulation d'un biofilm complexe obtenu par passage de lait UHT dans la MAT d'une autre ferme



3 Implantation d'un biofilm complexe à partir d'un tronçon de lactoduc



1/ Nettoyage/désinfection
2/ Circulation d'un biofilm complexe issu d'un tronçon de lactoduc

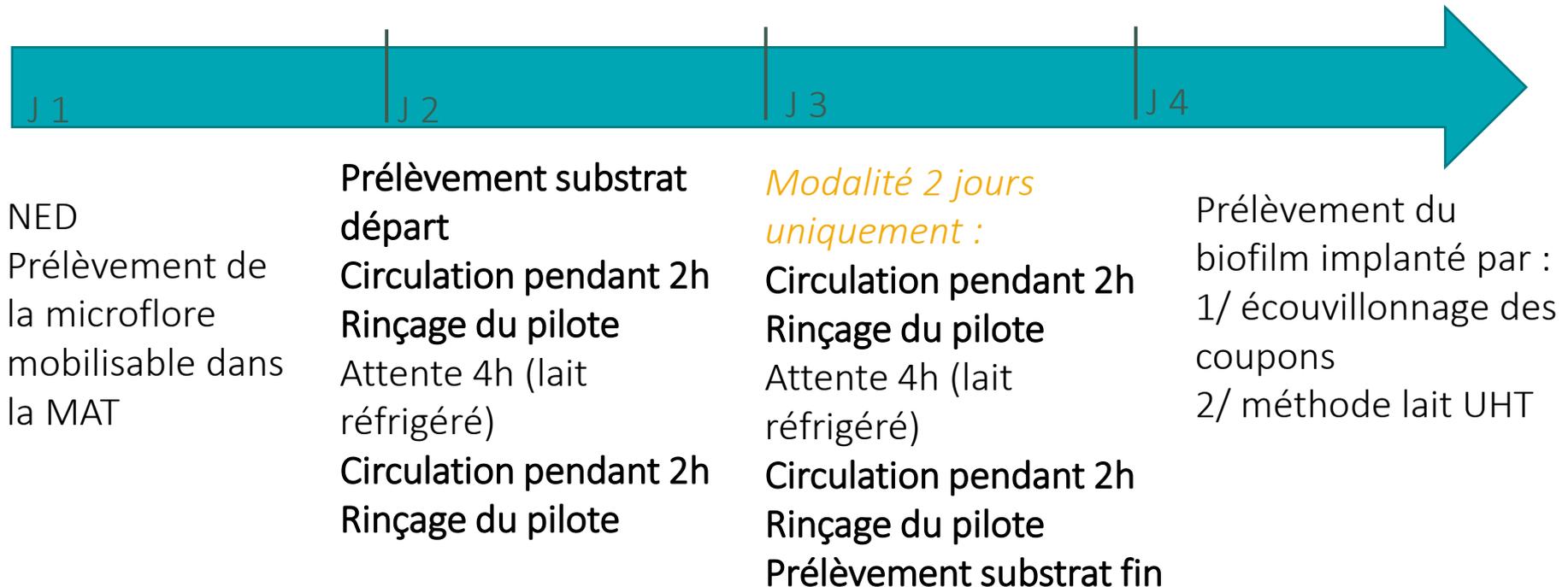
Méthode d'implantation

2 modalités testées :

1 jour d'implantation donc 2 circulations

2 jours d'implantation donc 4 circulations

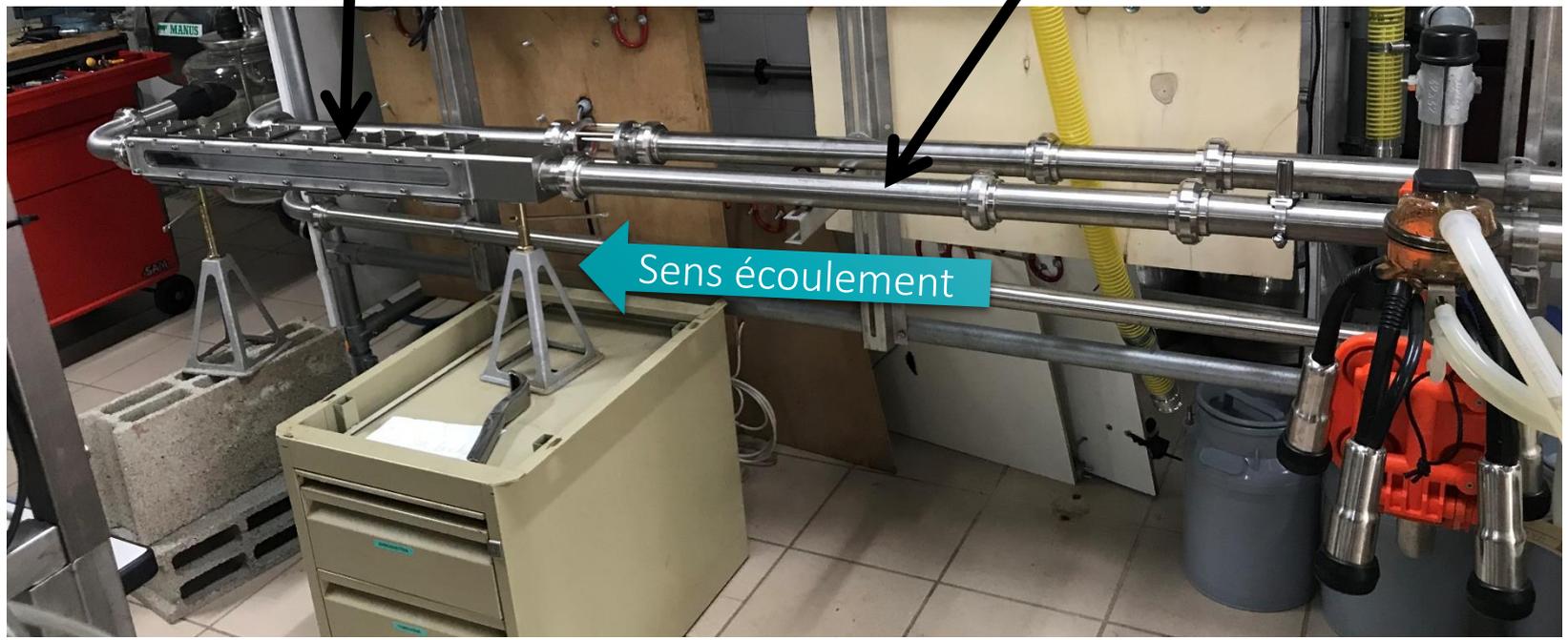
Procédure retenue :



Installation du tronçon sur le pilote

Porte-coupons

Tronçon de lactoduc en provenance de la ferme du Pradel

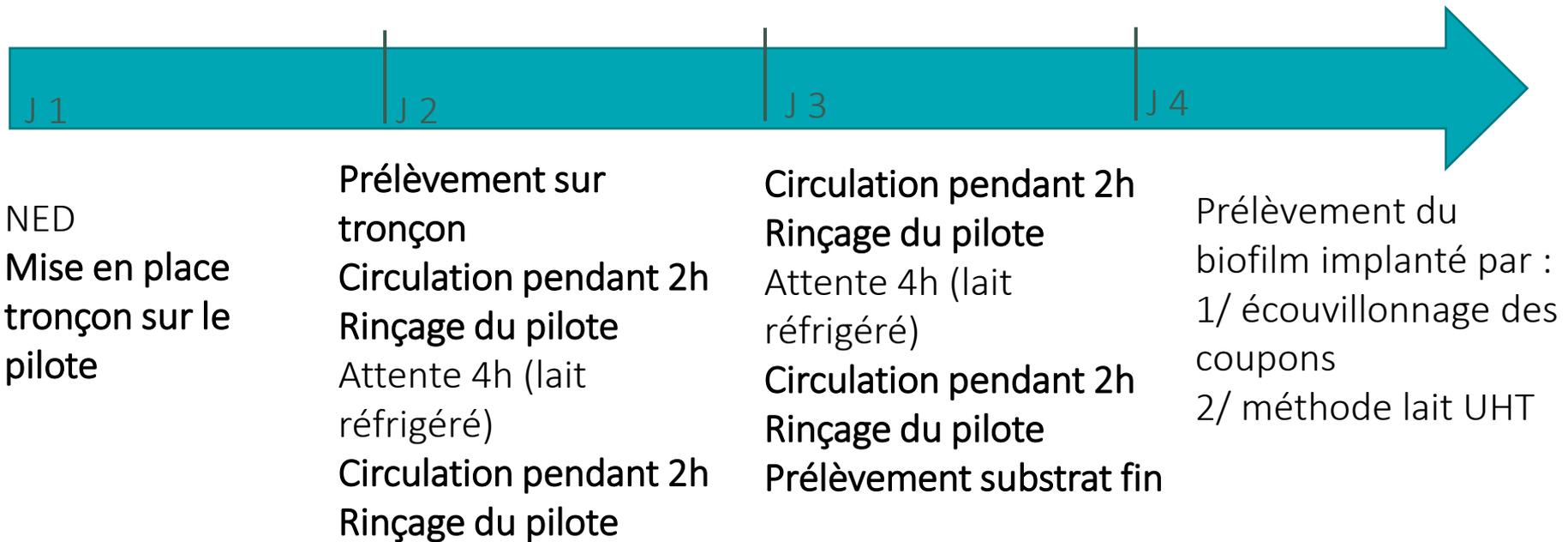


Sens écoulement

Méthode d'implantation

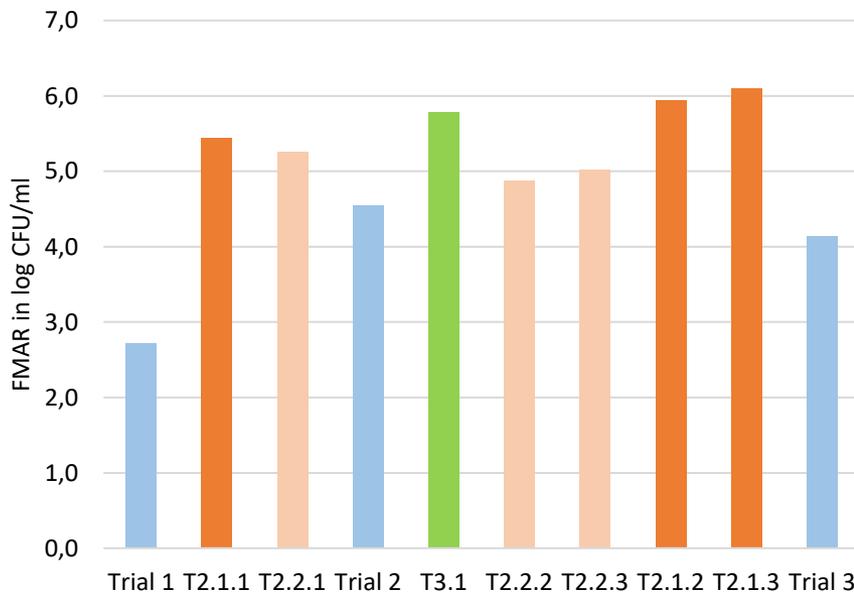
Procédure retenue :

Retrait du tronçon de la MAT à la ferme du Pradel à J-2 (avant traite du matin)
 Transport en réfrigéré



Evolution de la flore microbienne pendant l'installation du biofilm

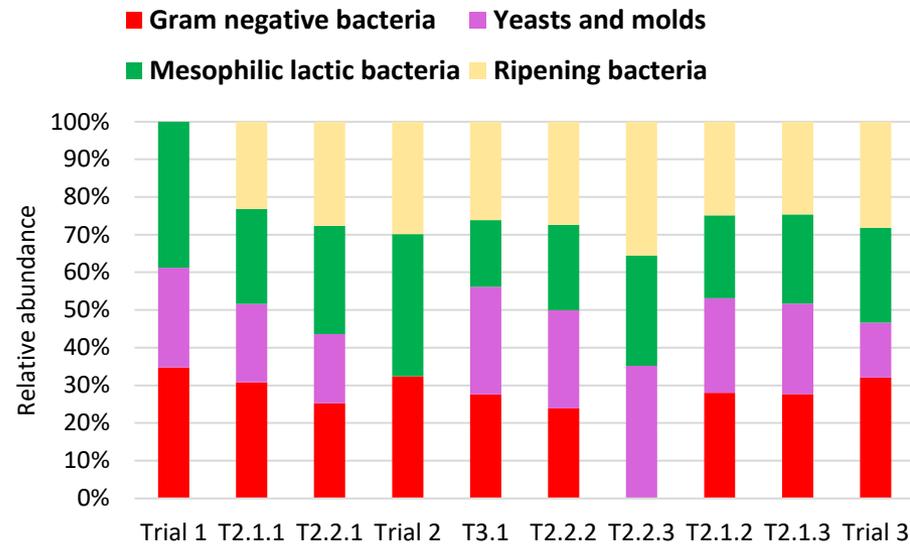
Evolution de la flore totale mésophile aérobie dans le lait UHT après circulation dans le pilote (n=1)



Légende:

- Biofilm résident
- Biofilm complexe – lait - 2 jours
- Biofilm complexe – lait - 1 jour
- Biofilm complexe - section du tuyau de MAT

Evolution de l'abondance relative des groupes microbiens dans le lait UHT après circulation dans le pilote (n=1)

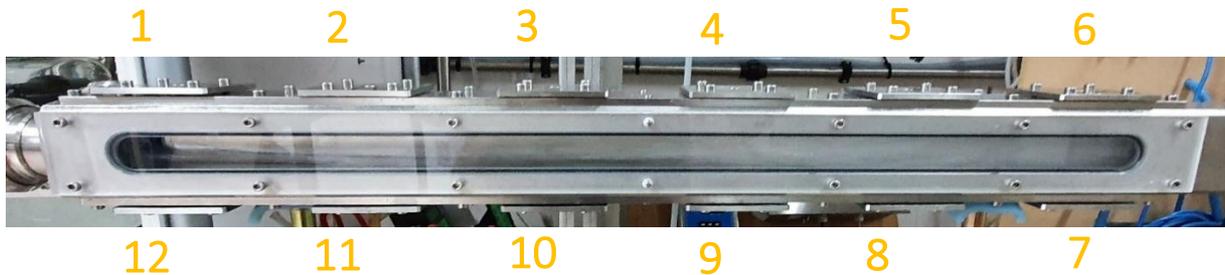


Pas de procédure d'implantation

- Microflore pathogènes non détectées
- Niveaux de *Pseudomonas spp* souvent équivalents à ceux des Gram négative

Colonisation des coupons

Position des coupons sur le porte-coupon



- ✓ L'installation en biofilm dépend de la procédure (1 jour/2 jours) et de la position des coupons
- ✓ Les bactéries d'altération s'installent bien sur les coupons
- ✓ Meilleure implantation après 2 jours, notamment d'écosystèmes plus complexes

- ✓ Biofilm résident :
 - Microflores d'affinage et d'altération: représentatif des machines à traire du terrain
 - Biofilm résident modifié avec l'apport important de certaines microflores
 - ✓ Groupes microbiens : stable durant l'expérimentation, mais des analyses plus approfondies sont nécessaires (metabarcoding en cours de traitement)
 - ✓ Procédures d'implantation plus longues favorisent le développement des biofilms dans le pilote
 - ✓ Focus sur les coupons: colonisation plus élevée par les bactéries d'altération et 2 jours d'implantation favorisent la croissance de biofilms complexes
- ✓ Développement avec succès de l'installation pilote et de protocoles pour étudier l'impact de procédures de nettoyage/désinfection sur les biofilms de la machine à traire
 - ✓ Biofilm résident: nécessaire d'être contrôlé avant chaque expérimentation