

ESCHERICHIA COLI

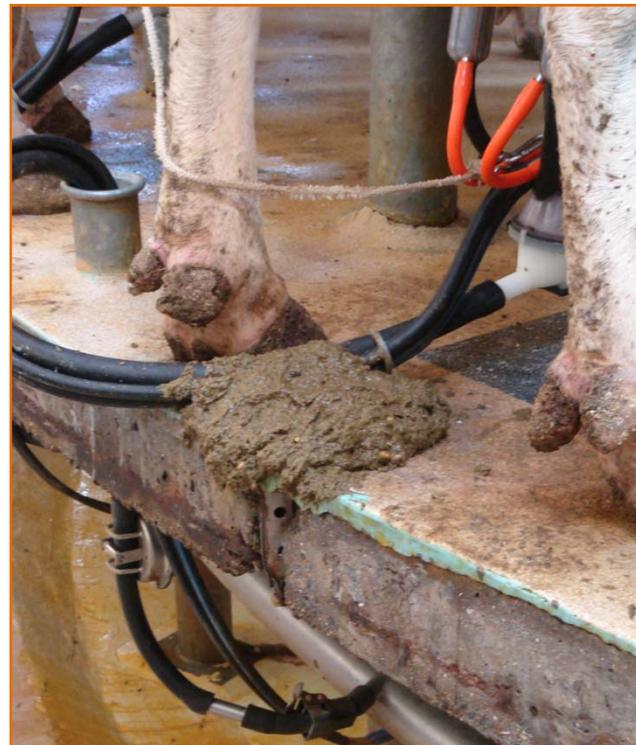
DANS UN PRODUIT LAITIER FERMIER

Cette fiche présente la démarche d'intervention proposée suite à la détection d'*Escherichia coli* dans un produit laitier fermier. En préalable à cette démarche d'intervention il est recommandé d'avoir lu les fiches « introduction », « préparation de la visite » et « analyses de laboratoire » du guide sanitaire en production laitière fermière et d'avoir participé à une formation au Guide des Bonnes Pratiques d'Hygiène pour les fabrications de produits laitiers et fromages fermiers.

LA DEMARCHE EN BREF...

Cette démarche d'intervention concerne uniquement les *Escherichia coli* (*E. coli*) au sens large, et **PAS les *Escherichia coli* producteurs de shiga-toxines (STEC) (voir résumé sur les STEC en annexe 3)**. Ces derniers sont rarement recherchés dans les produits, notamment faute de méthodes d'analyse performantes pour les rechercher en routine, à l'exception de O157 : H7. Il sera donc rare d'avoir à traiter ce cas, uniquement suite à un plan de surveillance ou suite à des pathologies humaines. En outre, le dénombrement d'*Escherichia coli* n'est pas forcément un bon indicateur de la présence de STEC, compte-tenu de la biologie particulière de ces germes. Enfin, les mesures de maîtrise des STEC sont mal connues à ce jour (voir annexe 3). Les

Escherichia coli font partie de la famille des coliformes.



Depuis la mise en place du « paquet hygiène », seuls certains produits laitiers restent concernés réglementairement par le critère *Escherichia coli* (tableau 1).

Tableau 1 : critères microbiologiques réglementaires applicables aux beurres et crèmes crues et aux produits ayant subi un traitement thermique

	Echantillonnage limites	Stade d'application
Beurre et Crème crue (ou lait ayant subi un traitement moins fort qu'une pasteurisation)	N=5, c=2 m=10 M=100	Fin du procédé de fabrication
Fromages à base de lait ou de lactosérum ayant subi un traitement thermique	N=5, c=2 m=100 M=1000	Pendant le procédé, au moment où l'on prévoit le nombre le plus élevé

Si le résultat est insatisfaisant (dépassement du seuil M) le producteur doit l'enregistrer, analyser les causes, rechercher les actions correctives, si possible avec un conseiller technique, et suivre l'évolution des résultats, mettre en place des actions correctives si les résultats se dégradent.

Pour les fromages au lait cru, même si ce critère n'est plus réglementaire il reste néanmoins un indicateur d'hygiène intéressant sur le produit fini et on peut faire le choix de le conserver à ce titre. Il est possible dans ce cas, de se référer à la réglementation précédente pour définir les modalités de surveillance des produits et les seuils d'alerte associés. Sur la base d'un plan à trois classes avec N=5 et c=2, ces seuils sont les suivants : m=10 000 et M=100 000.

La démarche présentée dans ce document concerne par conséquent l'ensemble des produits laitiers fermiers, y compris les fromages au lait cru indépendamment de tout aspect réglementaire. Des dénombrements élevés de *E.coli* peuvent être considérés comme un critère d'alerte (sur l'hygiène générale de la production du lait et/ou de la fabrication) et entraîner une réflexion sur l'ensemble de la chaîne de production afin de mettre en œuvre des mesures correctives.

Deux situations peuvent être distinguées :

- sur 5 unités de produit analysées, 2 sont entre les seuils m et M et les autres sont inférieures à m : les produits sont considérés comme « acceptables », l'intervention n'est pas urgente.

Elle peut cependant être utile pour éviter que la situation ne se dégrade.

- sur 5 unités de produit analysées, au moins une dépasse le seuil M :
 - beurre et crème crus, ou fromages au lait ou au lactosérum traités thermiquement ; les produits sont considérés comme « non satisfaisants » d'un point de vue réglementaire ; le producteur a l'obligation réglementaire de revoir son process, de mettre en œuvre des mesures correctives et d'avoir un suivi renforcé de ses produits. Une intervention est conseillée dans un délai assez bref,
 - fromages au lait cru : ce critère n'est pas réglementaire mais le dépassement de ce seuil doit entraîner une remise en cause des pratiques. L'intervention est conseillée, même si elle n'est pas urgente. Elle permettra de faire une analyse de risques au regard du mode de commercialisation, du niveau de contamination constaté dans les produits, du type de produit concerné, afin de décider de la mise en marché des produits.

Une nouvelle analyse sur le lot incriminé n'est nécessaire que si on a un doute sur la qualité de l'analyse ou de la prise d'échantillon (analyse faite à l'étranger, échantillon pris chez un client ou en linéaire, méthode d'analyse non normée...).

Les *Escherichia coli* sont des hôtes naturels du tube digestif des mammifères (1 g de fèces contient 10^5 à 10^6 de coliformes, dont 90% d'*E. coli*).

Les sources d'*Escherichia coli* à explorer sont, par ordre d'importance (figure 1) :

- une contamination « installée » (encrassement, présence de biofilms) des abreuvoirs, des équipements de traite ou dans la fromagerie : matériel, surfaces...
- une contamination de la peau des animaux (animaux, mamelle sales), du matériel de traite ou du tank, Une contamination de l'eau qui sert en fromagerie et/ou pour le nettoyage des installations de traite, voire pour l'hygiène de traite (eau des lavettes par exemple),
- une excrétion mammaire.

Les facteurs de multiplication à explorer sont :

- un encrassement de la machine à traire, tank, vanne, un dysfonctionnement du nettoyage des équipements de traite,
- un dysfonctionnement du tank (vitesse de refroidissement),
- une acidification non maîtrisée (voir annexe 1 sur la technologie).

Les principes généraux de l'intervention sont de limiter les risques de :

- contamination de la matière première (lait),
- multiplication des *E. coli* dans le lait et au cours du process.

DEROULEMENT DE L'INTERVENTION...

Les 5 étapes de l'intervention technique sont décrites schématiquement ci-dessous (figure 2).

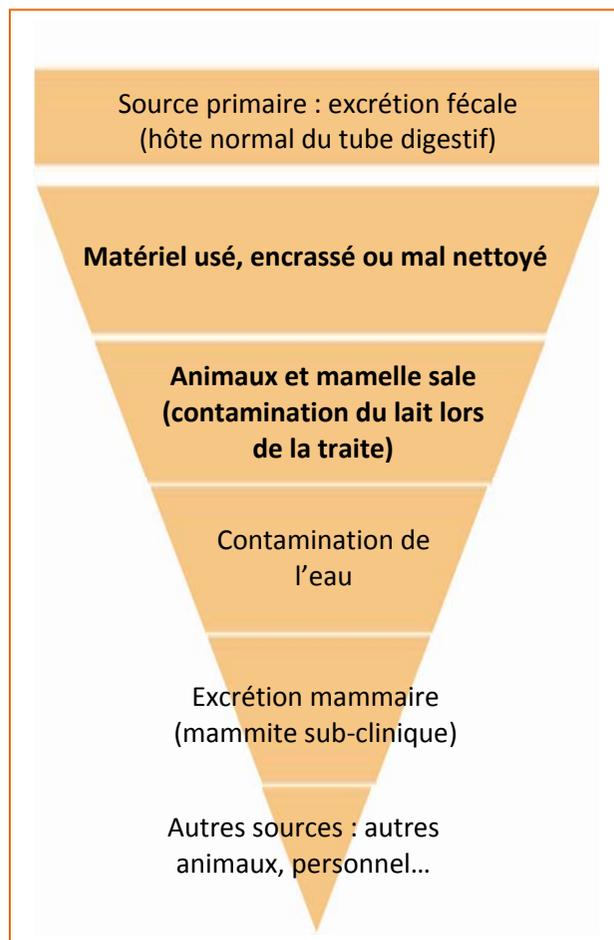


Figure 1 : Origine et vecteurs de contamination en *Escherichia coli* à explorer, de la plus fréquente à la moins fréquente

Etape 1 : préparation de la visite d'intervention :

Cette étape fait l'objet d'une fiche particulière dans ce guide voir « **PREPARATION DE LA VISITE** ».

Etape 2 : enquête et prélèvements dans l'exploitation :

Lors de la première visite, des analyses sont nécessaires pour déterminer si la contamination provient de l'élevage (le plus couramment rencontré) ou de la transformation (se référer à la fiche « **PREPARATION DE LA VISITE** »).

L'objectif de la première visite proprement dite est en priorité d'effectuer des prélèvements et de réaliser un diagnostic afin de mettre en place un plan de maîtrise visant à diminuer le nombre d'*Escherichia coli* dans le lait (seuil cible défini selon la technologie) ou dans les produits laitiers.

Au début de la visite, présenter ou rappeler au producteur quelques éléments techniques (biologie, conditions de température et de pH favorables à la croissance bactérienne...) concernant les *Escherichia coli* en s'appuyant sur l'ensemble des documents existants (GBPH notamment, plaquettes techniques...). Cette étape d'information et de sensibilisation permet d'explicitier le diagnostic du problème *Escherichia coli* auquel l'élevage est confronté et de dégager les leviers sur lesquels il devrait être possible d'agir pour améliorer la situation.

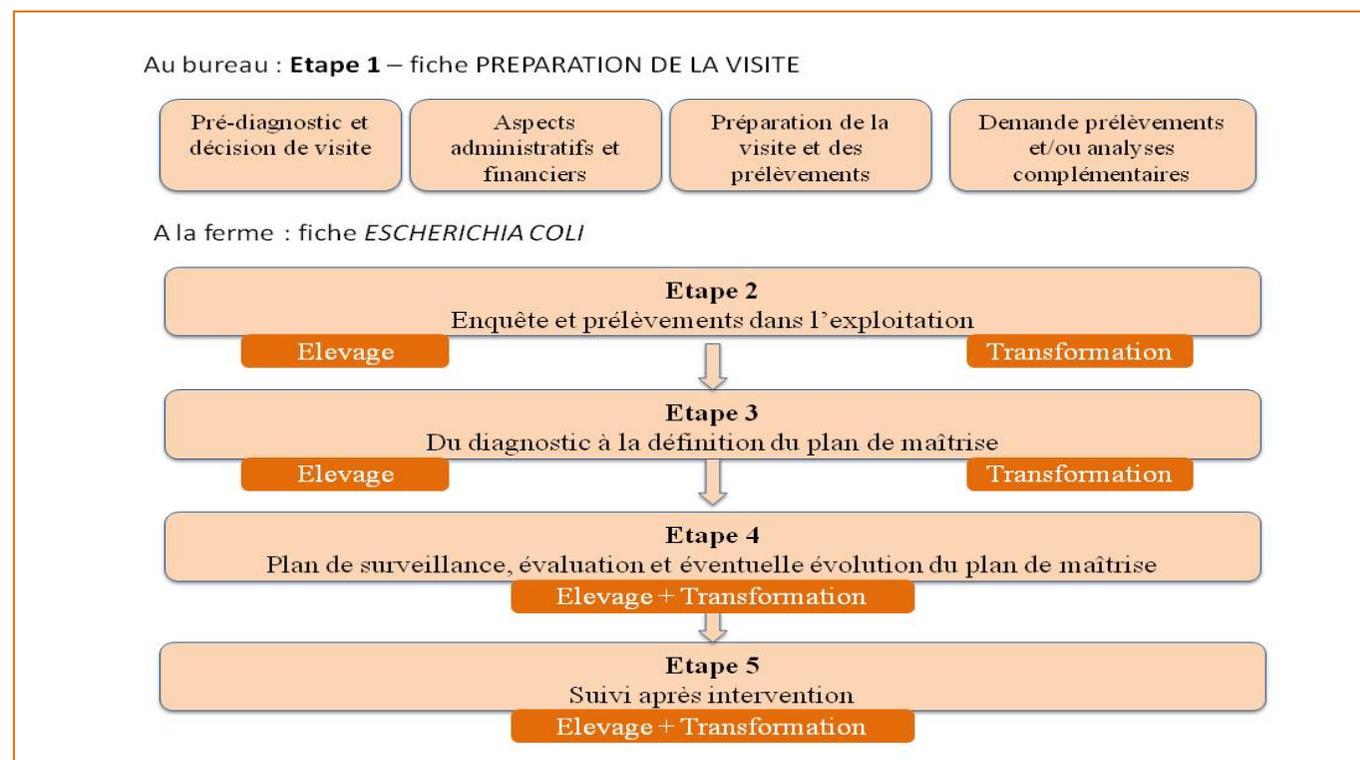


Figure 2 : Récapitulatif de la démarche d'intervention pour les *Escherichia coli*

• Partie élevage :

Il est important d'arriver avant la traite pour disposer de temps afin de pouvoir discuter avec le producteur, de lui présenter le travail qui va être mené au cours de la visite et d'installer le matériel pour les prélèvements.

L'identification des facteurs de risque pouvant expliquer la situation et la recherche des moyens d'action nécessaires à la résolution du problème, requièrent une analyse approfondie de la situation comprenant des observations, des mesures et des prélèvements. Il s'agira tout d'abord de :

- conduire une assistance traite afin :
 - d'observer les pratiques et techniques de traite (examen des premiers jets, hygiène de traite éventuelle, massage, rebranchage, surtraite...), l'état des trayons, et la propreté des animaux,



- d'évaluer la conception, l'entretien et le nettoyage de la machine à traire (consulter le bilan du diagnostic Optitraite®, s'assurer que les défauts relevés ont été corrigés et se référer aux guides existants : « bilan global de l'exploitation en lien avec les objectifs de

qualité et régularité des produits de l'éleveur » (Institut de l'Élevage *et al.*, en cours) ou méthode COFIT),

- de vérifier le bon fonctionnement du tank (thermomètre),
- mener une enquête ciblée concernant à la fois les animaux adultes et les jeunes :
 - sur les mammites : y a-t-il eu des mammites récemment ? Le lait d'une femelle atteinte de mammite peut-il être passé en transformation avant que la mammite n'ait été détectée ?
 - sur la qualité de l'eau : origine, risque de contamination fécale, hygiène des points d'eau, notamment en pâtures,
 - sur la possibilité de contact direct ou indirect entre les aliments des femelles laitières et d'autres animaux (animaux d'autres ateliers, nuisibles, oiseaux et animaux domestiques) ou leurs déjections.
 - sur l'origine, la conservation et les conditions de distribution des aliments du bétail,
 - sur la propreté des animaux et la façon dont est gérée l'hygiène générale dans le bâtiment (et évolution au fil des saisons).
- prendre connaissance des éventuels documents du contrôle laitier, voire de la laiterie (par exemple en cas d'analyses pathogènes sur le lait),
- analyser les mouvements des animaux laitiers : mise-bas, tarissements, vente ou achats... Un animal qui a été vendu récemment était peut-être responsable de la contamination trouvée sur un fromage. De même le fait que le lait d'animaux en traitement ait été écarté de la traite peut expliquer l'absence de germes dans le tank pour un jour de prélèvement donné...

- s'intéresser à la gestion du lait :
 - conditions de refroidissement du lait après la traite et traitement avant fabrication (stockage, maturation...),
 - devenir du lait cru qui revient de la vente au marché, chez un distributeur,
- s'enquérir de l'origine de l'eau utilisée en fromagerie, pour le nettoyage des installations de traite et pour l'hygiène de traite (eau des lavettes), des résultats des analyses effectuées lorsque l'eau employée n'est pas celle du réseau, et de la qualité du traitement de l'eau le cas échéant.

En complément de ces observations ou mesures, des prélèvements de lait seront réalisés afin de préciser le diagnostic. Il s'agira en priorité de prélever du lait de tank et/ou du lait provenant de différents bidons ou pots de traite et de l'éventuel stockage intermédiaire (boule à lait...).

Pour les exploitations qui transforment le lait selon une technologie lactique avec prématuration, ne prendre que le lait non ensemencé d'une seule traite en reportant l'ensemencement à la fin de la traite, si possible plusieurs jours de suite. La quantité à prélever est à préciser avec le laboratoire.

Des prélèvements sur la machine à traire ou concernant l'eau des lavettes peuvent n'être envisagés que dans un second temps (tableau 2).

Tableau 2 : type de prélèvements à réaliser en exploitation et niveau de priorité, exemple pour des analyses de d'Escherichia coli

Type de prélèvement	Niveau de priorité
ELEVAGE	
Lait individuel sortie mamelle	2
Lait du tank	1 (à renouveler)
Manchons, joints ou autres éléments de la machine à traire	1 si mauvais état sinon 2
Biofilm de la machine à traire	2
Eau des lavettes avant traite	2
Chiffonnette des trayons après hygiène de traite éventuelle	2
ALIMENTS, EAU ET FECES	
Eau de nettoyage des installations de traite et eau de fromagerie (autant d'analyses que d'origines différentes)	2
FROMAGERIE	
Matériel de fromagerie (moule, planche d'affinage, ...)	2
Saumure	2
Caillé au bout de 6h de caillage ou au moulage	1

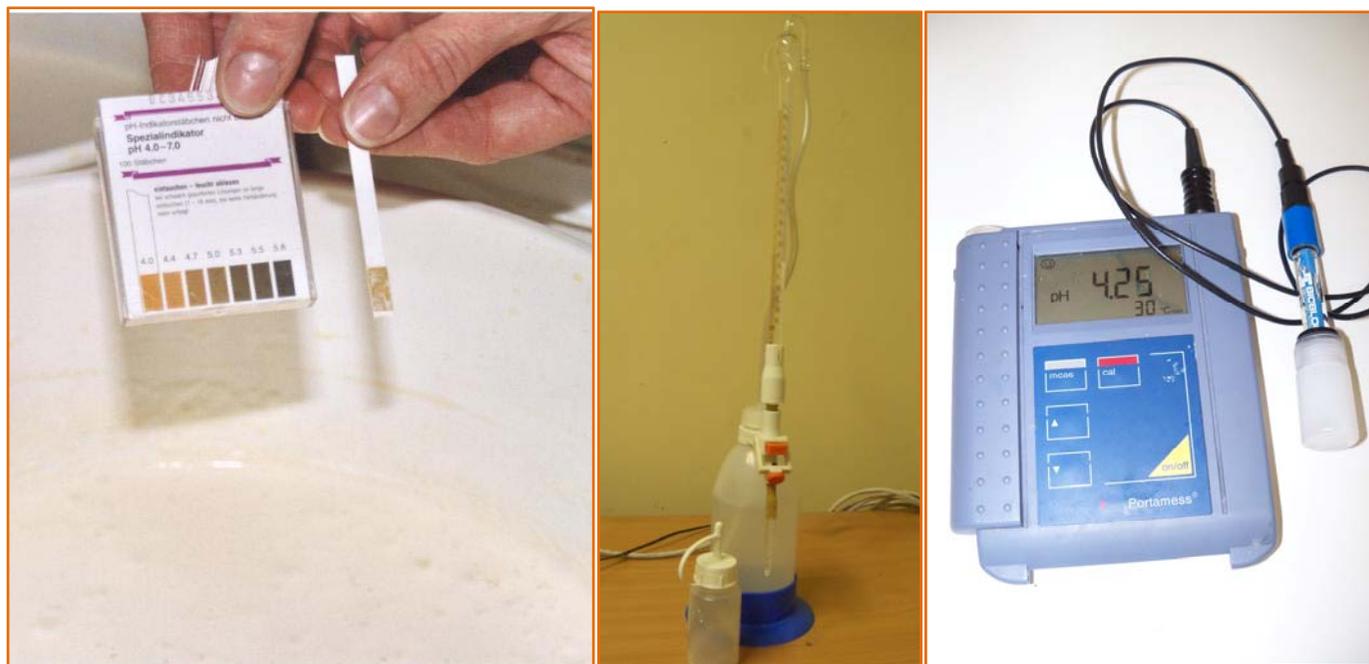
1 : type de prélèvement fortement conseillé en première intention pour poser un diagnostic et mettre en place un plan d'action

2 : type de prélèvement conseillé, soit pour rechercher en deuxième intention des sources ou des vecteurs de contamination, soit dans un but pédagogique pour démontrer un circuit de contamination et l'intérêt d'une mesure de maîtrise

• Partie transformation :

Dans l'atelier de transformation, l'objectif des investigations est à la fois de rechercher d'éventuelles sources de contamination et d'identifier les facteurs favorisant la multiplication des bactéries.

Quel que soit le niveau de contamination observé (< ou > M) il est probable que les Escherichia coli proviennent du lait matière première. Par contre selon le niveau de contamination (notamment sir M est dépassé, on s'intéressera éventuellement aux sources de contaminations et facteurs de multiplication ou coups de la transformation.





De la même manière que pour la partie élevage l'analyse globale de situation va être fondée sur un ensemble d'observations, de mesures et de prélèvements. Il s'agira tout d'abord de réaliser une visite des locaux et de suivre le déroulement d'au moins une fabrication (pH) (voir grilles de suivi de fabrication dans « bilan global de l'exploitation en lien avec les objectifs de qualité et régularité des produits de l'éleveur » (Institut de l'Élevage et *al.*, en cours)). Si plusieurs produits sont fabriqués dans l'atelier, il est nécessaire de faire le suivi de la fabrication du produit ayant présenté des *Escherichia coli* et/ou du type de technologie la plus à risque.

Au cours de cette visite les points suivants seront abordés :

- le process lui-même avec : consultation des documents et enregistrements de suivi technologique existants et des instruments de mesure, puis analyse de la gestion de l'acidification incluant la qualité du lactosérum et/ou de la présure :
 - établir si la présure a pu être contaminée lors des manipulations, et participer ensuite à la dissémination des bactéries,

- même type de questionnement pour les autres auxiliaires et les ingrédients,
- apprécier le mode de prélèvement du lactosérum et vérifier les conditions de conservation,
- faire des mesures et vérifier la validité des outils de mesure du producteur (thermomètres y compris affichage digital du tank... acidimètre, pH-mètre...).
- la gestion des lots de fabrication : il s'agit d'appréhender la manière dont sont définis et gérés les lots de fabrication.
- l'hygiène du personnel / les problèmes d'infections transitoires chez le personnel : observer l'hygiène du personnel à l'entrée dans la fromagerie : propreté des mains, adoption d'une tenue spécifique, ...
- la propreté / le nettoyage du matériel (tank / matériel de fabrication) :
 - s'informer sur le nettoyage du matériel en contact avec la matière première au cours des 12 premières heures de fabrication,
 - observer l'état d'encrassement, la propreté du matériel (y compris dans les endroits moins accessibles comme la vanne du tank).

Enfin, il faut interroger le producteur pour savoir s'il a pu rattacher la contamination à un événement particulier, (incident, dysfonctionnement...). En complément de ces observations ou mesures, des prélèvements peuvent être réalisés et concerner : le lait matière première si l'analyse n'a pas été faite auparavant, éventuellement le caillé au moulage ou au bout de 6h de caillage.

Etape 3 : du diagnostic à la définition d'un plan de maîtrise :

L'objectif principal de l'intervention est d'apporter des recommandations sous forme d'un plan

d'actions fixant des mesures concrètes destinées à atteindre des objectifs réalistes.

Les recommandations découlent du pré-diagnostic, de l'analyse conjointe des facteurs de risque relevés sur l'exploitation, ainsi que, éventuellement, des résultats des prélèvements. La formulation écrite du plan d'actions (et des objectifs) est indispensable pour éviter toute dérive. Un premier plan de maîtrise devra être proposé le jour de la visite. Il pourra être complété en s'appuyant sur les résultats des analyses des prélèvements réalisés le jour de la visite. En particulier, l'importance relative des volets élevage et transformation pourra être précisée. Pour ce faire, un seuil critique de dénombrement de *E. coli* du lait entrant en fabrication doit préalablement être défini en fonction de la technologie appliquée (voir annexe 1). C'est au regard de ce seuil que seront interprétés par la suite les résultats des analyses de lait de tank.

• Partie élevage :

Les analyses de lait de tank peuvent permettre de préciser l'origine de la contamination : par le lait matière première ou par le biais d'une recontamination en fromagerie.

Certains utilisent le ratio *E. coli* / coliformes totaux (analyse à 30°C sur milieu VRBL) comme indicateur de l'origine de la contamination du lait. Un faible ratio les oriente vers une contamination fécale. Néanmoins des modifications de composition microbiologique des laits, des conduites d'élevage, et l'absence de repères pour les petits ruminants font qu'il est difficile de fixer des seuils actualisés pour évaluer ce ratio.

Différents moyens de maîtrise peuvent être envisagés :

- Mesures de lutte concernant les animaux :

- hygiène de traite :

- pour les vaches, l'objectif est d'avoir des trayons propres et sec à la pose des manchons : s'assurer de la propreté des animaux et du bon état de la peau des trayons et si nécessaire essayer de les améliorer,
 - l'hygiène de traite est d'autant plus efficace que l'état de propreté des trayons des animaux est bonne (conformation, qualité du logement, des chemins et des pâtures) et que les trayons soient facilement nettoyyables (qualité de la peau des trayons),
 - mettre en place une hygiène de traite si elle n'existe pas, au moins de façon transitoire, et surtout s'assurer que cette hygiène de traite est individuelle et bien réalisée (nettoyage et désinfection des lavettes, entretien des gobelets pour pré- et post-trempage...),
 - renforcer l'hygiène de traite si elle existe pendant la durée des problèmes sanitaires, (par exemple lavettes individuelles et essuyage papier ou si les trayons sont propres, pré-trempage ou pré-moussage et essuyage papier en prévoyant des lavettes individuelles pour les trayons sales) et vérifier qu'elle est bien appliquée.



- pour les chèvres et les brebis, veiller à avoir des animaux propres à la traite, éviter de pailler avec les refus, penser éventuellement à faire réaliser un écussonnage en brebis (tonte de l'arrière-train)

- pratiques de traite : si besoin, faire évoluer les pratiques de traite afin de limiter la sur-traite, les entrées d'air en particulier en fin de traite, la traite humide, si besoin, faire évoluer les pratiques de traite afin de limiter la sur-traite, les entrées d'air en particulier en fin de traite, la traite humide,
- contrôle et réglage de la machine à traire : à envisager si le dernier contrôle date de plus de 1 an :
- logement des animaux :
 - si besoin, et ce parfois à plus long terme, faire évoluer les conditions de logement des animaux si elles ne sont pas favorables,
 - prendre des mesures pour avoir des animaux propres et des mamelles non souillées (curage, adaptation des surfaces des bâtiments, attention à l'état des entrées de pâture et des sorties de bâtiment, paillage plus important si nécessaire, éviter de pailler avec les refus, accès, positionnement et nombre des abreuvoirs...).

- Mesures de lutte relatives à l'entretien et au nettoyage des équipements de traite :

- rectifier si nécessaire les procédures de nettoyage (températures, durée...),
- vérifier que les défauts relevés dans le diagnostic Optitrait® ont été corrigés,
- selon les défauts ou incidents constatés (par exemple s'il y a eu un manchon percé, ou si du lait déborde du piège sanitaire), envisager de nettoyer le circuit de vide. Ce nettoyage du circuit de vide peut être délicat. Mieux vaut se mettre en contact avec son concepteur ou l'installateur de la machine à traire pour être efficace sans détériorer le matériel,

- si on en a la compétence, démonter les endroits sensibles et éliminer les encrassements,
- faire un choc base-acide au moment de la première intervention et à nouveau, après la prise de mesures de maîtrise : il s'agit de réaliser un cycle de lavage complet à l'aide d'un produit alcalin, suivi d'un cycle de lavage complet à l'aide d'un produit acide ; un rinçage doit être réalisé entre les deux et à l'issue du second cycle de lavage.



Il est possible d'être confronté à des défauts de conception qui rendent l'installation difficilement nettoyable : lactoduc non bouclé, pente insuffisante, voir contrepente ou tuyau présentant des bosses, incapacité du système à réaliser suffisamment de turbulences pour le nettoyage ou fourniture d'eau chaude irrégulière (chauffe eau sous dimensionné ex : traite et fromagerie), Dans ce cas, il est important de les prendre en compte et d'évaluer la possibilité de faire évoluer l'installation.

Il est nécessaire d'évaluer la pertinence des mesures de maîtrise proposées. Pour cela, il s'agit de refaire des analyses sur le lait et les produits après la mise en place des mesures de lutte, et pour les animaux traités au tarissement, de refaire des analyses après mise-bas. Pour maintenir par la suite une situation favorable, il faut inciter le producteur à mettre en place un plan de prévention des mammites à modèle contagieux.

• Partie transformation :

Dans un grand nombre de cas, c'est le lait matière première qui contient les *Escherichia coli*. Néanmoins, avant d'avoir les résultats des analyses de lait, ou si l'élevage n'est pas en cause, il est important de vérifier les sources éventuelles de contamination en fromagerie : matériel et nuisibles (rongeurs, insectes...) essentiellement, voire personnel.

- Eliminer des contaminations éventuelles par les intrants :

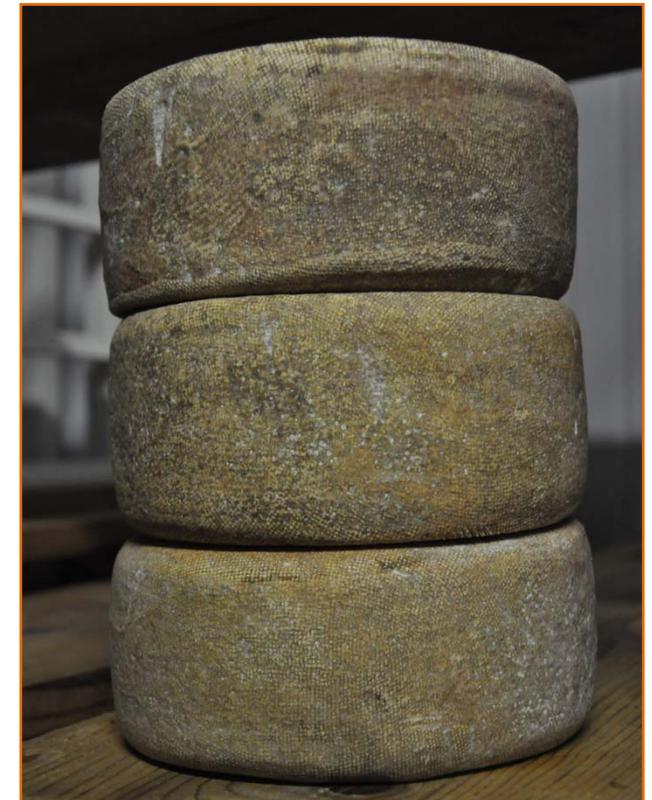
- changer le ferment si on est en lactosérum ou en grand levain :
 - on peut recourir à un lactosérum que l'on avait congelé dans une période favorable (par exemple après un auto-contrôle satisfaisant),

- en cas d'utilisation de ferments du commerce, il conviendra de veiller aux conditions d'emploi : ajuster les températures de fabrication, ne pas repiquer un ferment non repiquable, attention à la propreté des flaconnages pour la réalisation de levains, et à l'eau ayant servi au nettoyage de ces flaconnages,
- tant que dure le problème sanitaire, éviter les lactofermentations fermières pour ensemencher le lait...
- changer la présure si elle semble à risque (date de péremption, mode de conservation et d'utilisation...), ou le matériel servant à prélever la présure (bouchon, seringue, cuillère, pot...).



- changer toutes les solutions de frottage, de pulvérisation de flores de surface... Eviter les pratiques de frottage qui commencent par les fromages les anciens pour finir par les plus jeunes.

- jeter et renouveler la saumure si on en utilise. Nettoyer, détartrer et désinfecter tout le matériel utilisé pour le saumurage ou le salage à sec. Par précaution, préférer le salage à sec le temps de trouver la source de contamination (attention le passage d'un salage en saumure à un salage à sec va affecter le produit et son affinage). Il faudra prévoir de refaire la saumure lorsque la source de contamination aura été trouvée et éliminée, ou au moins lorsque l'eau ou le lait matière première sera régulièrement négatif.



- Adaptations éventuelles du process de transformation :

Si les problèmes de contamination du lait sont récurrents, verrouiller la maîtrise de l'hygiène et de la technologie ou conseiller une technologie moins risquée.

L'objectif en fromagerie va être de contenir au maximum le développement des *Escherichia coli* au cours de la fabrication des produits. Pour cela, le producteur dispose de 4 leviers, qui pourront être plus ou moins efficaces selon la technologie :

- la température : les *Escherichia coli* ne se développent pas à une température inférieure à 8°C ; ils se multiplient d'autant plus que la température est élevée dans leur plage de croissance optimale (autour de 37°C) [rappel : 1 génération (soit un doublement de la population) toutes les 17 minutes à 37°C, dans leurs conditions optimum de croissance],
- la gestion des flores utiles : le développement des flores utiles, lactiques notamment, va faire concurrence à la croissance des *Escherichia coli*,
- la gestion de l'acidification : la plage optimale de développement des *Escherichia coli* étant au-dessus de 6 unités pH, on peut limiter sa croissance en passant rapidement en dessous de cette valeur si la technologie le permet. Pour les technologies où l'acidification est tardive, on peut cependant la démarrer plus tôt, même si son ampleur sera moindre,
- les durées : il faut chercher à réduire au maximum les durées pendant lesquelles les *Escherichia coli* se trouvent dans des conditions favorables à leur développement : par exemple en refroidissant ou en ensemençant rapidement le lait après la traite, en augmentant les doses d'ensemencement...



Il faudra veiller à ce que l'application de ces mesures ne change pas radicalement le produit (voir en annexe 1 des recommandations par type de technologie). Lorsque l'on a pu trouver et éliminer la cause de la contamination, revenir progressivement au schéma technologique de départ.

Si le producteur pratique le report du lait d'une ou plusieurs traites, s'assurer que celui-ci est bien maîtrisé : report au froid inférieur à 4°C ou ensemencement et maintien de la température en dessous de 12°C pendant 12h au maximum.

En cas de difficultés importantes et toujours de façon transitoire, on peut envisager soit de collecter le lait pour une transformation en filière pasteurisée soit encore de valoriser le lait par d'autres fabrications...

- Nettoyage et désinfection du matériel et des locaux :

Ne pas tout désinfecter d'emblée, la modification des équilibres et écosystèmes microbiens n'étant jamais anodine. Nettoyer, détartrer et désinfecter (dans cet ordre-là) le matériel en contact avec le produit au moins jusqu'aux moules. Renforcer l'hygiène des mains des personnes intervenant en élevage et en fromagerie.

Ces opérations de nettoyage voire de désinfection seront à renouveler après que la cause ait été trouvée et éliminée en élevage.

Si l'on n'a pas le temps de tout nettoyer/désinfecter le même jour : commencer par l'élevage et la machine à traire avant de s'intéresser au volet transformation, de l'entrée du lait à l'affinage.

Au cours de l'intervention et à la fin de celle-ci : donner de préférence un compte-rendu écrit en hiérarchisant les recommandations, en précisant les analyses à refaire à court terme et en fixant des échéances pour la réalisation des mesures conseillées.

Etape 4 : plan de surveillance, évaluation et éventuelle évolution du plan de maîtrise :

Après la mise en œuvre de ce plan de maîtrise, des fabrications sont relancées si elles avaient été interrompues et les produits sont vérifiés par des analyses régulières. Une visite supplémentaire peut

permettre aussi de s'assurer de la mise en œuvre effective des mesures de maîtrise.

Dans le cas où le diagnostic n'a pas pu être facilement posé ou si des produits sont toujours contaminés, l'enquête doit se poursuivre en s'élargissant sur des facteurs de risques moins courants. Il peut s'agir par exemple d'un cas d'excrétion mammaire d'*E. coli* suite à une mammite sub-clinique.

Des prélèvements de deuxième intention peuvent alors être réalisés, soit pour étudier de nouvelles pistes de contamination, soit dans un but pédagogique afin d'argumenter le bien-fondé d'une ou plusieurs mesure(s) de maîtrise : prélèvements de lait individuel (voir annexe 2), prélèvements dans la machine à traire pour rechercher des encrassements, prélèvements de l'eau des lavettes avant utilisation pour juger de leur nettoyage/désinfection entre deux traites. Possibilité de prélèvements échelonnés pendant la durée de la traite à des endroits différents : dans les griffes, à la purge du bocal de réception, dans le tank (pour voir si nid à *E. coli* à un endroit précis). Si les analyses de lait intra-mammaire montrent que des animaux sont positifs, écarter leur lait et les soigner éventuellement (choix à faire selon le rapport coût/bénéfice).

Etape 5 : suivi après intervention :

Un plan de surveillance du lait et des produits doit être établi avec une fréquence d'analyse pouvant aller d'une fois par semaine à une fois par mois selon le profil de risque estimé par le technicien avec l'éleveur.

Prévoir et organiser un suivi dès le début de l'intervention est indispensable. En effet, les

éleveurs ne se contentent souvent pas d'un avis unique et rediscutent du travail réalisé par l'intervenant initial avec d'autres conseillers ou familiers. De nouveaux avis peuvent venir contredire le plan de maîtrise proposé, d'où un risque d'inaction de l'éleveur ou de mise en place de mesures de maîtrise inappropriées à la situation.

Le suivi repose sur :

- la vérification de la mise en place des actions avec, si besoin, relance/re-motivation de l'éleveur,
- l'évaluation de l'évolution de la contamination dans l'exploitation.

Opérationnellement, l'évaluation gagne à reposer sur un diagnostic et une surveillance fait par ou associant fortement l'éleveur. L'intervenant doit analyser les données avec l'éleveur en vue de juger si ce qui a été fait donne les résultats escomptés aux échéances prévues. En cas de réponse négative il faudra rechercher les causes de l'échec et faire les adaptations nécessaires en relation avec la personne ayant réalisé le diagnostic.



A la fin de l'intervention, une fiche de bilan est proposée au technicien (fiche « **BILAN D'INTERVENTION** ») pour faire une évaluation de

son intervention, afin de prendre du recul sur ses méthodes, d'en garder une trace et peut-être d'améliorer les interventions suivantes. Ce document peut aussi servir de trame pour un compte-rendu au producteur. D'un point de vue collectif, ces fiches de bilan pourront servir à la filière afin de réaliser une synthèse collective des interventions sur une même base (en projet), pour :

- analyser les caractéristiques des interventions réalisées par les techniciens de la filière sur le type de germes rencontrés, les facteurs de risque identifiés et les mesures de maîtrise mises en place, remonter au niveau national des données sur les plans d'intervention réalisés afin de mieux définir les mesures de maîtrise du risque lié aux bactéries pathogènes adaptées aux spécificités de la production fermière. La Profession pourra ainsi dialoguer de manière argumentée avec l'administration sur les options de maîtrise sanitaire essentielles dans les exploitations fermières.
- enrichir et faire évoluer les démarches d'intervention.

Pour le producteur, cette phase de bilan peut être l'occasion de revoir et de faire évoluer son plan de maîtrise sanitaire.

Cas particuliers rencontrés (musée des horreurs...)

Voilà des cas rencontrés par d'autres techniciens ; ce ne sont pas des cas courants :

- Contamination d'une vanne de la machine à traire,
- Casserole qui sert à prendre le lait dans le tank pour la consommation familiale mal nettoyée,
- Thermomètre encrassé qui contamine le lait,
- Cuillère pour tourner la crème non nettoyée,
- Poignée du tranche-caillé, hélice de la baratte, pale agitation du tank creux impossible à nettoyer ou fissurée.

Ce dossier a été piloté par l'Institut de l'Elevage et réalisé avec le soutien financier de FranceAgriMer et de la région Rhône-Alpes

Ce guide a été rédigé par : Sabrina Raynaud (Institut de l'Elevage), Julie Barral (Actilait Centre de Carmejane), Sylvie Morge (PEP caprins Rhône-Alpes), à partir de la capitalisation de l'expérience de techniciens de terrain : Jean-Marie Ducret (Centre Technique des Fromages Comtois), Marie-Annick Dye (Chambre d'Agriculture de l'Isère), Jean-François Guittard (Syndicat du Saint Nectaire), Emilie Gillet (Association des Vendeurs Directs de Produits Laitiers de Haute-Normandie), Maxime Marois (Groupement de Défense Sanitaire des Alpes de Haute-Provence), Bruno Mathieu (Syndicat Interprofessionnel du Reblochon), Jacky Mège (Association des Eleveurs Transhumants des Trois Vallées), Pascal Picant (Groupement de Défense Sanitaire du Calvados), Jean-Charles Ray (Etablissement Régional de l'Elevage d'Ile-de-France), Violaine Salaün (Interprofession lait de brebis des Pyrénées Atlantiques), Laurent Thomas (Groupement de Défense Sanitaire du Rhône)

Relecture : Guillemette Allut (Languedoc Roussillon Elevage / Centre Fromager de Bourgogne), Aline Bazin (Centre Technique des Fromages Comtois), Emilien Fatet (Actilait Centre de Carmejane), Yves Lefrileux (Institut de l'Elevage), Laëtitia Rossignol (Centre Fromager de Bourgogne), Marie Vandewalle (Association Régionale des Vendeurs Directs Nord Pas de Calais)

Référents techniques : Renée de Crémoux et Philippe Roussel (Institut de l'Elevage), Jean-François Combes (ENILV Aurillac), Valérie Michel (Actilait), Jean-Luc Simon (Groupements de Défense Sanitaire de Rhône-Alpes)

Responsables professionnels : Marc Lesty et Frédéric Blanchard (FNEC)

Mise en page : Stéphanie Couspeyre – Réf. : 00 11 38 014

Crédit photos : Institut de l'Elevage, Violaine Salaün, Bruno Mathieu, Actilait, Jean-Luc Simon, Laurent Thomas, PEP Caprins Rhône-Alpes, Jacky Mège, Marie Vandewalle, Charlotte Geyl



Syndicat du Fromage
Saint-Nectaire



Association des Vendeurs Directs
de Produits Laitiers de Haute-Normandie



Interprofession
Lait de brebis
Pyrénées
Atlantiques



AVEC LE SOUTIEN
FINANCIER DE :



FranceAgriMer

Rhône-Alpes Région

BIBLIOGRAPHIE

Pour en savoir plus

- AFSSA, 2003. Bilan des connaissances relatives aux Escherichia coli producteurs de Shiga-toxines (STEC). Rapport, 220 pages. (téléchargeable sur le site de l'Anses, ex-AFSSA, ainsi que des fiches sur les STEC).
- AFSSA, 2008. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif aux souches d'Escherichia coli productrices de shigatoxines considérées comme pathogènes pour l'homme. Avis du 15 juillet 2008. 14 pages.
- AFSSA, 2010. Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à la pertinence d'une révision de la définition des STEC pathogènes, précisée par l'avis Afssa du 15 juillet 2008. Avis du 27 mai 2010. 19 pages.
- Anses, 2011. Avis relatif à la révision de la définition des E. coli entéro-hémorragiques (EHEC) majeurs typiques, à l'appréciation quantitative des risques liés à ces bactéries à différentes étapes de la chaîne alimentaire, selon les différents modes de consommation des steaks hachés, et à la prise en compte du danger lié aux E. coli entéro-pathogènes (EPEC) dans les aliments. Avis du 11 janvier 2011. 58 pages.
- CEPIL, 1992. Les groupes microbiens d'intérêt laitier. CEPIL. 568 pages.
- Eck A., Gillis J.C., Hermier J., Lenoir J., Weber F., 1997. Le fromage, 3 ème édition. Editions Lavoisier Tec&Doc, 891 pages.

- FNEC, FNPL, Institut de l'Élevage, 2008. Guide des bonnes pratiques d'hygiène pour les fabrications de produits laitiers et fromages fermiers, 2008. Troisième édition Technipel.
- FNEC, FNPL, Institut de l'Élevage, 2009. Document d'intervention et notice correspondante « Appui technique système qualité sécurité sanitaire en exploitations laitières fermières ».
- FNPL - Institut de l'Élevage, 1995. Guide de bonnes pratiques : hygiène et qualité en élevage laitier.
- FNPL - Institut de l'Élevage, 1995. Références techniques pour l'hygiène en production laitière bovine.
- GIE lait-viande et FRGDS Rhône-Alpes, 2003. Les risques de contamination du lait par les microbes indésirables. Plaquette de 28 pages.
- Institut de l'Élevage, 1995. Qualité bactériologique du lait à la ferme. Collection Le point sur ...,
- Institut de l'Élevage / IESIEL / FNPL, 1995. Manuel de référence pour la qualité du lait.
- PEP caprins Rhône-Alpes et CNAM. La méthode Olivier, CD-Rom d'auto-formation à la maîtrise sanitaire des fromages caprins fermiers.
- Raynaud S., Vernozy-Rozand C., Boscher P., Picant P., Mathieu B., Degand C., Poutrel B., Heuchel V., Chatelin Y-M., 2005. Prévalence, origine, circulation et persistance des Escherichia coli producteurs de Shiga-toxines (STEC) dans les élevages bovins français. 12èmes Rencontres Recherche Ruminants. 2005 (12), p. 379-382.

- Raynaud S., Vernozy-Rozand C., Boscher P., Picant P., Mathieu B., Degand C., Poutrel B., Heuchel V., Chatelin Y-M., 2005. Surveillance et maîtrise de la prévalence du portage des E. coli productrices de shiga-toxines (STEC) dans les élevages bovins – Recherche des moyens de prévention de la contamination du lait cru à la production. Rapport de fin recherche, Institut de l'Élevage, n° 150531001, 124 pages. (téléchargeable sur site www.inst-elevage.asso.fr / espace thématique qualité du lait).
- Vernozy-Rozand C., Montet M.P., 2001. *Escherichia coli* O157:H7. Editions TEC&DOC Lavoisier. 135 pages.

Documents de vulgarisation cible éleveur

Fiches techniques : GIE Pays de la Loire, GDS Basse-Normandie, PEP caprins Rhône-Alpes, GIE lait-viande et FRGDS Rhône-Alpes, Association des Vendeurs Directs de Produits Laitiers Fermiers de Haute-Normandie, Centre Technique des Fromages Comtois....

ANNEXE 1 : ADAPTATIONS TECHNOLOGIQUES AFIN DE LIMITER LE DEVELOPPEMENT DES ESCHERICHIA COLI EN FABRICATION POUR DIFFERENTES FAMILLES TECHNOLOGIQUES

La définition des familles technologiques est celle adoptée dans le Guide des Bonnes Pratiques d'Hygiène pour les fabrications de produits laitiers et fromages fermiers.

En cas de dépassement durable de M, des mesures transitoires d'adaptation de la transformation fromagère peuvent être mises en place pour limiter le développement des *Escherichia coli*.

PATE MOLLE TYPE PRESURE

1. Seuil de contamination, repères :

Pour les fromages à pâte molle à dominante présure, l'objectif conseillé de dénombrement d'*Escherichia coli* est de moins de 10 Unités Formant Colonies (UFC)/ml sur le lait de tank. Avec une certaine rigueur dans les pratiques de l'éleveur, cet objectif peut être atteint assez rapidement. Si le schéma technologique comporte une phase d'acidification avant emprésurage, le lait peut se situer à moins de 50 Unités Formant Colonies d'*Escherichia coli* / ml.

2. Objectifs en termes de températures de travail et d'acidification :

Dans le cas où une préparation des laits est réalisée avant l'emprésurage, avec ou sans ensemencement :

- si la température de préparation est inférieure à 8°C, et d'autant plus si le lait n'est pasensemencé avant la préparation, les *Escherichia coli* risquent de se développer dès que l'on remonte la température pour le caillage en l'absence de flore de compétition en quantité importante,

- à l'inverse si la température de préparation du lait est supérieure à 14°C, la quantité d'*Escherichia coli* risque d'augmenter pendant la maturation et sur le fromage.

Pour cette préparation du lait, l'objectif sera donc de se situer entre 8 et 12°C avec un ensemencement en ferments lactiques mésophiles, afin d'obtenir un gain d'acidité de 2 à 6 °D sur le lait mûré (atteindre un pH de 6.4-6.5 en fin de préparation). Pour atteindre ces objectifs, il peut être nécessaire d'utiliser un ferment (grand levain par exemple) qui sera directement actif et de ne pas utiliser de ferment lyophilisé à ensemencement direct. Si le problème de contamination par les *Escherichia coli* perdure et que le producteur a des difficultés à maîtriser la prématuration, il faudra envisager de supprimer cette dernière, soit en stockant le lait à moins de 4°C ou en fabriquant après chaque traite.

En ce qui concerne la maturation chaude (courte), il importe de vérifier les paramètres dans lesquels elle est réalisée. La dose d'ensemencement peut être renforcée et surtout l'apport de bactéries lactiques doit se faire sous forme de levain préparé (pas de ferment lyophilisé à ensemencement direct) pour avoir une prise d'acidité rapide. La température peut éventuellement être augmentée de 1 à 2°C pour la maturation, sans changer la température d'emprésurage et de caillage, ce qui peut impliquer de refroidir le lait avant emprésurage.

3. Modalités de suivi :

- Prélèvements pour suivi contaminations des produits :

Lait frais refroidi à la sortie de la machine à traire et fromage 4h après moulage (=6h après emprésurage),

Suivi des températures de fabrication (cycle thermique) et de l'acidification.

- Tracer une courbe d'acidification :

L'acidification joue un rôle important dans la maîtrise des *Escherichia coli*, il est donc important d'étudier comment se déroule la courbe d'acidification dans l'exploitation, si possible à l'aide d'un pH-mètre enregistreur (figure 1), ou en réalisant des mesures ponctuelles de pH ou d'acidité (lors des 4 premières heures (emprésurage, décaillage, moulage, avant de partir de la fromagerie le matin), le soir (objectif d'avoir atteint une valeur proche de celle du pH objectif au démoulage), et le lendemain).

L'objectif général doit être de démarrer l'acidification dans la première heure qui suit l'ensemencement, et au démoulage d'atteindre un pH de 4,8-5,0 pour des pâtes molles de type présure. Pour des pâtes molles mixtes à caillage rapide, l'objectif est d'atteindre au démoulage un pH de 4,6-4,7.

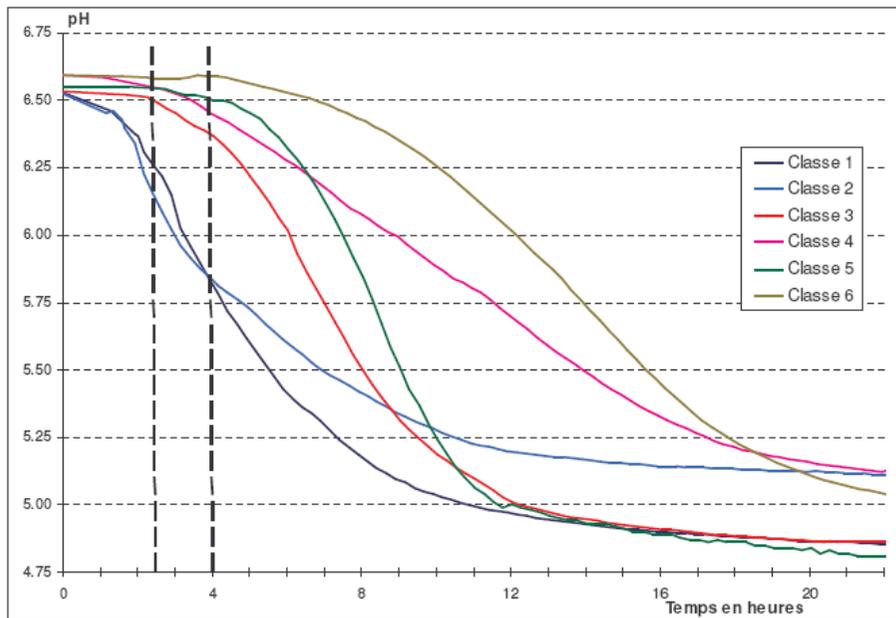


Figure 1 : Exemples de courbes d'acidification en fabrication de pâtes molles de type présure

Classe 1 : pâte molle mixte

Classe 2 : courbe en technologie munster ou reblochon

Classe 3-4 et 5 : courbes non recommandées

Classe 6 : courbe très traditionnelle mais problèmes sanitaire possible car le pH de 5 est atteint seulement à 20h ; fromages pâte molle obtenus à caractère très lactique

4. Recommandations pour l'ensemencement en microflores lactiques et de surface :

Pendant et après les problèmes de pathogènes, et ce de façon transitoire, il est recommandé d'ensemencer avec des ferments du commerce homofermentaires mésophiles + thermophiles si besoin, plutôt sous forme de levain (souche mère) (préparer dans ce cas là sur un lait stérile (UHT ou pasteurisé) pas sur le lait de l'exploitation, sauf bouilli ou pasteurisé et éviter de repiquer ce levain) ; éviter l'ensemencement direct (lyophilisé par exemple) car démarrage trop lent de l'activité acidifiante.

Si les objectifs d'acidification ne sont pas atteints (acidification insuffisante), il faut envisager une autre

façon de préparer le ferment, ou de changer de source d'ensemencement, ou de préparer mieux le lait (maturation avant emprésurage en adaptant la température et la dose à l'objectif à atteindre à l'emprésurage).

En ce qui concerne l'ensemencement en bactéries lactiques et la conduite de l'acidification, deux moyens peuvent être utilisés pour limiter le développement des *Escherichia coli* :

- utiliser des bactéries lactiques thermophiles cultivées sous forme de levain :
 - suivant le type de produit fabriqué (cette méthode est plutôt utilisée pour des produits à pâte souple), il peut être intéressant d'utiliser des ferments thermophiles (seuls ou en complément de ferments mésophiles) sous forme de grand levain (pas d'ensemencement direct), afin de limiter le développement des

Escherichia coli par compétition bactérienne et en diminuant le pH du milieu. Cette diminution de pH est due à la dégradation des protéines et la déminéralisation précoce provoquée par ces bactéries. Ces ferments peuvent être pilotés par la température plus facilement que les mésophiles : selon la température de travail en cuve et surtout la température de la salle pendant le pressage, il sera possible de modifier plus facilement l'intensité et la rapidité de l'acidification. Toutefois ce pilotage s'effectuera plutôt par la mesure du pH dans le caillé plus que par la mesure de l'acidité sur le sérum. On recherche une chute de pH assez rapide (0.2 à 0.4 unités pH perdues 2 à 4h après la traite, voir courbe ci-dessous). En lait de vache et de brebis, on ne recherche pas de gain d'acidité à l'emprésurage.

L'utilisation de doses excessives de ferments thermophile donne des pâtes trop « caoutchouc », manquant de parfum et de goût, et s'affinant trop vite. Etant peu acidifiants, surtout aux températures de fabrication utilisées ici, ils permettront de ne pas trop acidifier même avec des doses élevées, et d'éviter d'obtenir un fromage trop sec.

- acidifier rapidement le lait en utilisant des bactéries lactiques mésophiles : méthode plus traditionnelle mais qui aura plus d'incidence sur le produit et le temps de travail (plus long) :
 - cette méthode, plus traditionnelle, est utilisée plutôt pour des fromages plus secs, de type tomme par exemple. Un léger gain d'acidité (<2°D) peut alors être recherché à l'emprésurage (lait de chèvre). Par contre une acidification mésophile trop rapide entraîne une pâte déminéralisée donc crayeuse. L'association de ferments mésophiles et thermophile peut s'avérer intéressante mais nécessitera de trouver le bon mélange.

Lors de problèmes de germes pathogènes et/ou d'altération, l'écosystème microbien de la fromagerie est souvent perturbé (nettoyage et désinfections, modifications technologiques...). C'est pourquoi, il est conseillé d'utiliser, au moins de façon transitoire et même s'ils ne sont pas utilisés habituellement, des ferments commerciaux d'affinage (levures, bactéries et moisissures) en fonction de la flore de surface recherchée, voire un croûtage sain de l'exploitation (par exemple ayant été congelé après un auto-contrôle satisfaisant).

PATE MOLLE CAILLE DOUX

(pâte molle à acidification tardive)

1. Seuils de contamination, repères :

Dans ces technologies, l'acidification est tardive, le fromager dispose de peu de moyens de maîtrise si le lait est chargé en *Escherichia coli* au départ. Il faut donc veiller particulièrement à la qualité du lait en amont car très peu de leviers technologiques sont disponibles pour limiter le développement des *Escherichia coli*. Dans cette technologie le lait est travaillé à chaud après la traite et n'est pas stocké. L'objectif pour le lait de tank est donc fixé à <10 UFC/ml d'*Escherichia coli* (seuil de détection des méthodes de dénombrement). Avec une certaine rigueur dans les pratiques de l'éleveur, cet objectif peut être atteint assez rapidement.

2. Recommandations technologiques :

On peut aussi choisir pendant la durée des problèmes d'*Escherichia coli* de transformer le lait par une autre technologie moins à risque si on produit plusieurs type de produits sur l'exploitation. L'acidification même tardive, doit être accentuée pendant la durée des problèmes sanitaires (s'ils sont graves et/ou récurrents). Il faudra veiller à un démarrage de l'acidification au cours de la 1ère journée, en maintenant une température d'emprésurage et de caillage d'environ 30°C pour limiter le développement des *Escherichia coli*.

3. Recommandations pour l'ensemencement en microflores lactiques et de surface :

Il est aussi conseillé d'ensemencer, au moins de façon transitoire sur la durée des problèmes, en ferment du commerce mésophiles homofermentaires à raison de 0.2% avec une adaptation de la température (voire 0,05 % si on travaille plus chaud, mais le fait de travailler à une température supérieure à 30°C peut permettre le développement des *Escherichia coli* même en présence d'une flore de compétition). L'objectif est d'atteindre un pH de 5 environ 12h après emprésurage (attention le produit sera modifié, moins élastique). Les ferments devront être utilisés plutôt sous forme de levain (préparer dans ce cas là sur un lait stérile (UHT ou pasteurisé) pas sur le lait de l'exploitation, sauf bouilli ou pasteurisé et éviter de repiquer ce levain); éviter l'ensemencement direct (lyophilisé par exemple) car l'activité acidifiante démarrerait alors trop lentement.

Lors de problèmes de germes pathogènes et/ou d'altération, l'écosystème microbien de la fromagerie est souvent perturbé (nettoyage et désinfections, modifications technologiques...). C'est pourquoi, il est conseillé d'utiliser, au moins de façon transitoire et même s'ils ne sont pas utilisés habituellement, des ferments commerciaux d'affinage (levures, bactéries et moisissures) en fonction de la flore de surface recherchée, voire un croûtage sain de l'exploitation (par exemple ayant été congelé après un auto-contrôle satisfaisant).

PATE MOLLE DE TYPE LACTIQUE

1. Seuils de contamination, repères :

Pour les fromages à pâte molle à dominante lactique, l'objectif conseillé de dénombrement d'*Escherichia coli* est :

- < 50 Unités Formant Colonies (UFC)/ml de lait à l'emprésurage si l'acidification est rapide ou si le profil d'acidification rapide donne un pH < 5 à 10h de caillage,
- < 10 Unités Formant Colonies (UFC)/ml sur le lait de tank. Avec une certaine rigueur dans les pratiques de l'éleveur, cet objectif peut être atteint assez rapidement.

2. Objectifs de températures de travail et d'acidification :

Dans le cas où une préparation des laits est réalisée avant l'emprésurage, avec ou sans ensemencement :

- si la température de préparation est inférieure à 8°C, et d'autant plus si le lait n'est pasensemencé avant la préparation, les staphylocoques risquent de se développer dès que l'on remonte la température pour le caillage en l'absence de flore de compétition en quantité importante, mais dans une moindre mesure que sur les pâte molle présure car les températures appliquées, de l'ordre de 19-22°C, sont moins élevées qu'en technologie de type présure,
- à l'inverse si la température de préparation du lait est supérieure à 14°C, la quantité d'*Escherichia coli* risque d'augmenter pendant la maturation et sur le fromage.

Pour cette préparation du lait, l'objectif sera donc de se situer entre 8 et 12°C avec un ensemencement en ferments lactiques mésophiles, afin d'obtenir un gain d'acidité sur lait de mélange de 4 à 5°D pour du lait de chèvre et \geq à 7-8°D en vache et brebis (atteindre un pH de 6,2-6,3 pour du lait de chèvre ; ne pas descendre en dessous de 6 pour du lait de chèvre et 6,1-6,05 pour du lait de vache ; avec un minimum 5,8-5,9). Pour atteindre ces objectifs, il peut être nécessaire d'utiliser un ferment (grand levain par exemple) qui sera directement actif et de ne pas utiliser de ferment lyophilisé à ensemencement direct. Si le problème de contamination par les *Escherichia coli* perdure et que le producteur a des difficultés à maîtriser la prématuration, il faudra envisager de supprimer cette dernière, soit en stockant le lait à moins de 4°C ou en fabriquant après chaque traite

3. Modalités de suivi :

- Prélèvements pour suivi contaminations des produits :

Lait frais refroidi à la sortie de la machine à traire et caillé 6h après emprésurage.

- Tracer une courbe d'acidification :

L'acidification joue un rôle important dans la maîtrise des *Escherichia coli*, il est donc important d'étudier comment se déroule la courbe d'acidification dans l'exploitation, si possible à l'aide d'un pH-mètre enregistreur, ou en réalisant des mesures ponctuelles de pH ou d'acidité (lors des 4 premières heures (avant préparation, après, emprésurage, +2H après emprésurage, avant de partir de la fromagerie le matin), 12h après emprésurage et 24h après emprésurage (= moulage souvent). objectif + 35-40°D et/ou pH <5 à 10-12H

après emprésurage L'objectif général doit être de démarrer l'acidification dans les 12 premières heures qui suivent l'ensemencement, et au démoulage d'atteindre un pH de 4,4-4,7 (voir courbes repère en figure 2).

En parallèle, les températures d'emprésurage et de caillage devront être maintenues en dessous de 20°C, voire à 18°C pour limiter le développement des *Escherichia coli*. Mais il est important que la température appliquée soit suffisante pour réussir l'acidification en 24h.

4) Recommandations pour l'ensemencement en microflores lactiques et de surface :

Pendant et après les problèmes de pathogènes, et ce de façon transitoire, il est recommandé d'ensemencer avec :

- un **lactosérum congelé** avec du lait (cryoprotecteur) en période saine, par exemple après un autocontrôle satisfaisant : voir fiche « congélation du lactosérum » (Centre Fromager de Carmejjane, 1996) ; penser à en congeler régulièrement, le temps de conservation (2 mois ½) ne dure pas la campagne laitière,
- des **préparations à bases de fromages frais** de l'exploitation (évaluer le risque sanitaire),
- des **ferments du commerce** : homofermentaire ou hétérofermentaire mésophiles sous forme de levain (préparer dans ce cas là le levain sur un lait stérile (UHT ou pasteurisé) pas sur le lait de l'exploitation, sauf bouilli ou pasteurisé et éviter de repiquer ce levain) ; éviter l'ensemencement direct (lyophilisé par exemple).

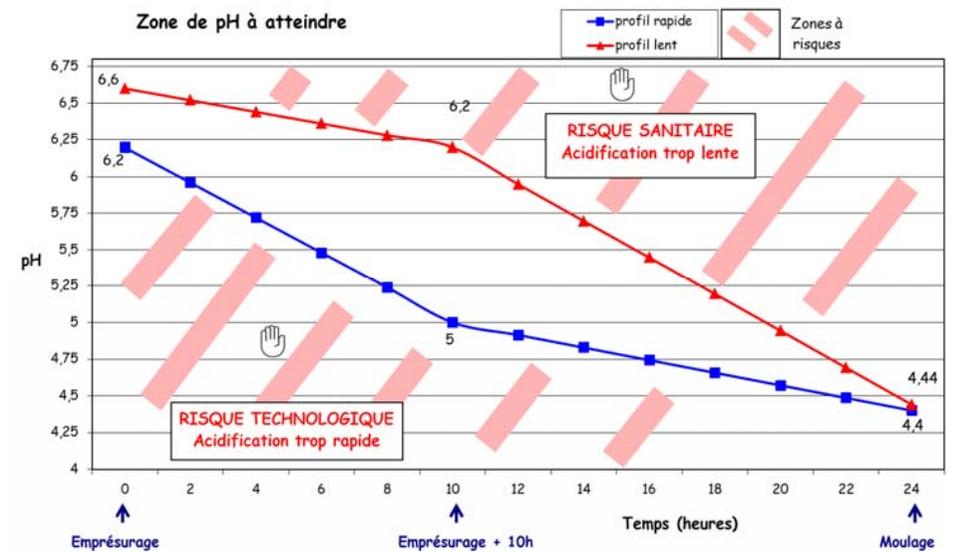
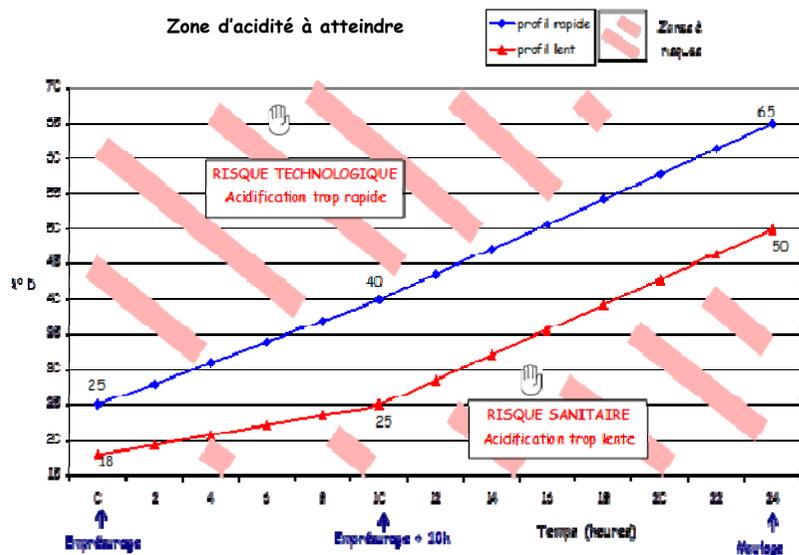


Figure 2 : Courbes-types de profils d'acidification en acidité dornic et en pH durant la fabrication de pâtes molles lactiques, zones à atteindre et zones à risque (source : guide « accidents d'acidification », mise à jour 2011, dans le guide des accidents de fromagerie)

Lors de problèmes de germes pathogènes et/ou d'altération, l'écosystème microbien de la fromagerie est souvent perturbé (nettoyage et désinfections, modifications technologiques...). C'est pourquoi, il est conseillé d'utiliser, au moins de façon transitoire et même s'ils ne sont pas utilisés habituellement, des ferments commerciaux d'affinage (levures, bactéries et moisissures) en fonction de la flore de surface recherchée, voire un croûtage sain de l'exploitation (par exemple ayant été congelé après un auto-contrôle satisfaisant)

pratiques de l'éleveur, cet objectif peut être atteint assez rapidement.

2. Modalités de suivi :

- Prélèvements pour suivi contaminations des produits :

Lait frais refroidi à la sortie de la machine à traire et fromage 4h après moulage (=6h après emprésurage). Suivi des températures de fabrication et de l'acidification.

- Tracer une courbe d'acidification :

L'acidification joue un rôle important dans la maîtrise des *Escherichia coli*, il est donc important d'étudier comment se déroule la courbe d'acidification dans l'exploitation, si possible à l'aide d'un pH-mètre enregistreur, ou en réalisant des mesures ponctuelles de pH (éventuellement au papier pH) ou d'acidité à l'ensemencement (souvent

pas fait), à l'emprésurage, au moulage +1h, +4 à 6h, +24h. L'objectif final de pH au démoulage est d'environ 5,2 mais ne doit pas passer en dessous de 5. De toute façon, l'objectif est de démarrer l'acidification avant le moulage (voir courbes repère en figure 3).

Pendant et après les problèmes de pathogènes, et ce de façon transitoire, il est recommandé d'ensemencer avec des ferments du commerce homofermentaires mésophiles + thermophiles si besoin, plutôt sous forme de levain (souche mère) (préparer dans ce cas là sur un lait stérile (UHT ou pasteurisé) pas sur le lait de l'exploitation, sauf bouilli ou pasteurisé et éviter de repiquer ce levain) ; éviter l'ensemencement direct (lyophilisé par exemple ; si lyophilisé : à réhydrater une heure avant dans du lait UHT ou du lait bouilli et faire un calcul de dose) car démarrage trop lent de l'activité acidifiante. Si le lait est conservé au froid, la

PATE PRESSEE NON CUIE

1. Seuils de contamination, repères :

Pour les fromages à pâte pressée non cuite, l'objectif conseillé de dénombrement d'*Escherichia coli* est de moins de 10 Unités Formant Colonies (UFC)/ml sur le lait de tank. Avec une certaine rigueur dans les

température doit être maintenue en dessous de 4°C, pour une durée maximum de 36h de conservation.

L'atteinte rapide de la température de maturation ou d'emprésurage est importante, ce qui nécessite des équipements adaptés pour chauffer rapidement le lait. Vérifier que la procédure de chauffage ou de maintien en température est conforme aux objectifs

fixés par l'éleveur pour son schéma technologique (vérifier qu'il n'y a pas de dysfonctionnement de matériel ayant entraîné une dérive de température par exemple...). La maîtrise des niveaux de température est encore plus importante lorsque l'on utilise des ferments thermophile, pour lesquels un degré de T° d'écart peut avoir un impact important sur la courbe d'acidification et donc sur le produit.

L'objectif est d'avoir une vitesse de chauffe la plus rapide possible, et en tout cas d'une durée inférieure à 1h30.

Ne pas modifier la température à l'emprésurage, la durée du brassage et la température finale pour garder le même produit.

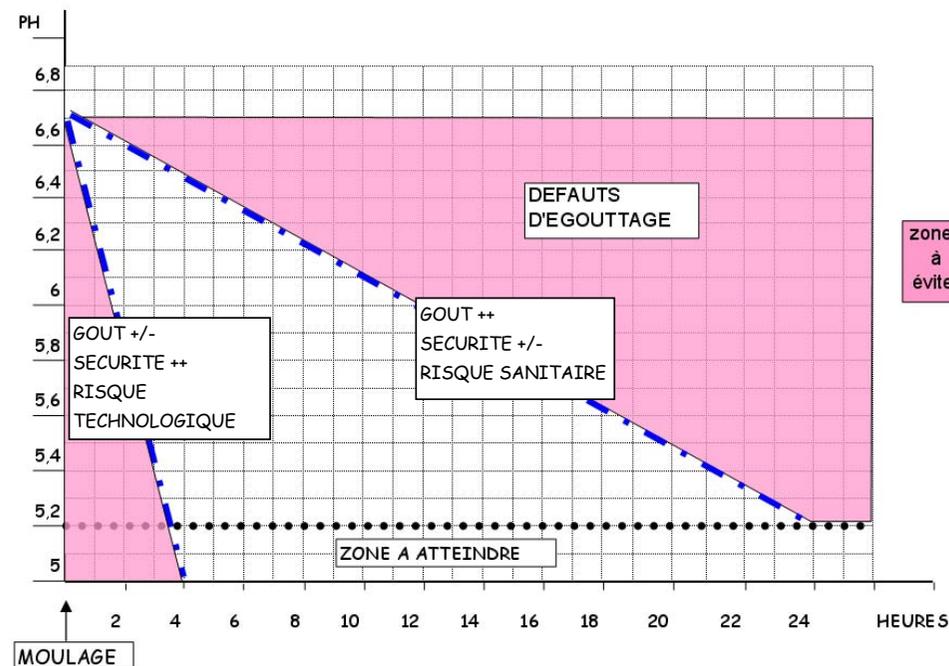
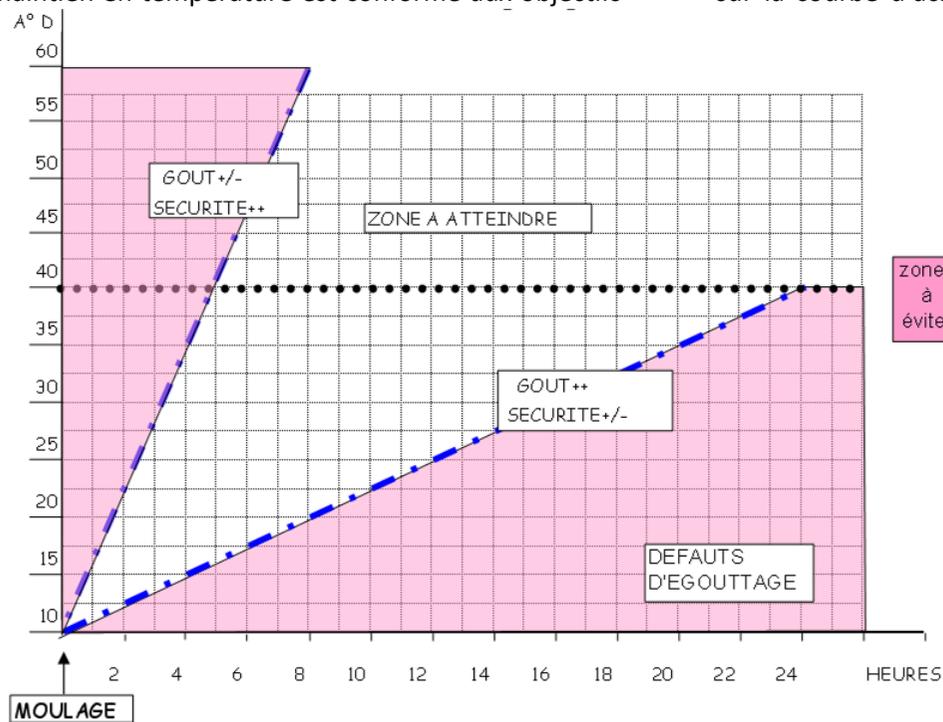


Figure 3 : Zones d'acidité et de pH à atteindre lors de l'égouttage en moule (Source : J. Mège, AET3V, fromages de brebis de type Ossau Iraty, mis à jour par G. Allut et S. Morge, 2011)

- Egouttage :

Veiller au bon déroulement de l'égouttage car un fromage trop humide peut laisser le champ libre au développement des *Escherichia coli*.

Changer la saumure et nettoyer et désinfecter le bac. Pour la solution de lavage des croûtes : prendre de l'eau bouillie et seau nettoyé et désinfecté pour chaque lot de fabrication ou se mettre à saler à sec.

- Prélèvements pour suivi contaminations :

Prélèvement du lait et du caillé au moulage et suivi des températures d'égouttage –pressage jusqu'à l'entrée en cave (cycle thermique).

3. Recommandations pour l'ensemencement en microflores lactiques et de surface :

En ce qui concerne l'ensemencement en bactéries lactiques et la conduite de l'acidification, deux moyens peuvent être utilisés pour limiter le développement des *Escherichia coli* :

- utiliser des bactéries lactiques thermophiles cultivées sous forme de levain :
Suivant le type de produit fabriqué (cette méthode est plutôt utilisée pour des produits à pâte souple), il peut être intéressant d'utiliser des ferments thermophiles (seuls ou en complément de ferments mésophiles) sous forme de grand levain (pas d'ensemencement direct), afin de limiter le développement des staphylocoques par compétition bactérienne et en diminuant le pH du milieu. Cette diminution de pH est due à la dégradation des protéines et la déminéralisation précoce provoquée par ces bactéries. Ces ferments peuvent être pilotés par la température plus facilement que les mésophiles : selon la température de travail en cuve et surtout la température de la salle pendant le pressage, il sera possible de modifier plus facilement l'intensité et la rapidité de l'acidification. Toutefois ce pilotage s'effectuera plutôt par la mesure du pH dans le caillé plus que par la mesure de l'acidité sur le sérum. On recherche une chute de pH assez rapide (0.2 à 0.4 unités pH perdues 2 à 4h après la traite, voir courbe ci-dessous). En lait de vache et de brebis, on ne recherche pas de gain d'acidité à l'emprésurage.

L'utilisation de doses excessives de ferments thermophile donne des pâtes trop « caoutchouc », manquant de parfum et de goût, et s'affinant trop vite. Etant peu acidifiants, surtout aux températures de fabrication utilisées ici, ils permettront de ne pas trop acidifier même avec des doses élevées, et d'éviter d'obtenir un fromage trop sec.

- acidifier rapidement le lait en utilisant des bactéries lactiques mésophiles : méthode plus traditionnelle mais qui aura plus d'incidence sur le produit et le temps de travail (plus long) :

Cette méthode, plus traditionnelle, est utilisée plutôt pour des fromages plus secs, de type tomme par exemple. Un léger gain d'acidité (<2°D) peut alors être recherché à l'emprésurage (lait de chèvre). Par contre une acidification mésophile trop rapide entraîne une pâte déminéralisée donc crayeuse. L'association de ferments mésophiles et thermophile peut s'avérer intéressante mais nécessitera de trouver le bon mélange.

Lors de problèmes de germes pathogènes et/ou d'altération, l'écosystème microbien de la fromagerie est souvent perturbé (nettoyage et désinfections, modifications technologiques...). C'est pourquoi, il est conseillé d'utiliser, au moins de façon transitoire et même s'ils ne sont pas utilisés habituellement, des ferments commerciaux d'affinage (levures, bactéries et moisissures) en fonction de la flore de surface recherchée, voire un croûtage sain de l'exploitation (par exemple ayant été congelé après un auto-contrôle satisfaisant).

PRODUITS FRAIS

1. Seuils de contamination, repères :

Pour les produits frais fabriqués au lait cru, l'objectif conseillé de dénombrement d'*Escherichia coli* est de moins de 10 Unités Formant Colonies (UFC) de *E. coli* /ml pour le lait de tank (seuil de détection des méthodes d'analyse). Avec une certaine rigueur dans les pratiques de l'éleveur, cet objectif peut être atteint assez rapidement.

2. Recommandations technologiques :

- pour le beurre et la crème : AVOIR et veiller à une bonne acidification : l'objectif est d'obtenir un pH de 4,7 - 5,0 à 18h de maturation. Les objectifs de température sont :
 - avant stockage : 4 à 6°C, garder au chaud à 10-12°C/ 8-10°C,
 - avant barattage : sortir dans la pièce de fabrication quelques heures avant barattage (en général la veille au soir, l'objectif étant d'atteindre environ à 8/10°C en été et 10/12°C en hiver au moment du barattage).

L'utilisation de ferments mésophiles acidifiants directs homofermentaires ou mélange homo et hétérofermentaire est conseillée, surtout lors de ces problèmes de pathogènes. En effet, dans certaines zones, en été, les producteurs ont tendance à arrêter les ferments.

Attention à la qualité de l'eau utilisée pour le lavage du beurre, ainsi qu'à la quantité et la répartition de l'eau conservée dans le beurre. Veiller également à l'hygiène des moules et des mains des mouleurs.

- pour les yaourts : ils sont réalisés à partir de lait pasteurisé (bonnes pratiques de pasteurisation en tableau 1), donc si des *Escherichia coli* sont retrouvés sur ces produits, la contamination peut être attribuée à :
 - une mauvaise pasteurisation,
 - une recontamination par le personnel, le matériel, le ferment (par exemple, penser à recevoir le lait pasteurisé dans un récipient nettoyé et désinfecté et attention à la redescende en température après la pasteurisation).

Tableau 1 : bonnes pratiques de pasteurisation à mettre en place

Point critique de maîtrise	Couple temps-température : lait à 85°C pendant 10 minutes.
Limites critiques	Température du lait < 75°C. <i>pas de limite supérieure (en cas de dépassement de la température cible ou de la durée, il peut exister un problème gustatif mais sans conséquence sanitaire)</i>
Procédure de surveillance	Chaque fabrication : affichage digital, et thermomètre plongé dans le lait, observation de l'heure à laquelle la température de 85°C est atteinte.
Mesures correctives	Prolongement de la montée en température. Si le lait atteint 75°C, il y est maintenu pendant 20 minutes (autre couple de pasteurisation basse). Si la température de 75°C ne peut être atteinte, alors le lait est éliminé et une maintenance du pasteurisateur est effectuée.
Enregistrement	Sur le cahier de fabrication, enregistrement de : <ul style="list-style-type: none"> - l'heure de début de la mise en chauffe - l'heure d'atteinte de la température de 75°C - l'heure d'atteinte de la température de 85°C - l'heure de début de refroidissement (= 10 min doivent séparer l'atteinte de la température de 85°C et l'arrêt de la chauffe).

ANNEXE 2 : PRELEVEMENTS INDIVIDUELS

- les prélèvements individuels doivent être réalisés par le technicien. Il s'agit cependant de ne pas prendre de risque, par exemple si les dispositifs de contention ne sont pas efficaces ou si les animaux sont particulièrement agités,
- les modalités de réalisation des prélèvements peuvent différer selon les conditions rencontrées :
 - les prélèvements doivent être réalisés de préférence de manière aseptique, tout particulièrement si les conditions sont favorables (salle de traite) et que les animaux sont peu nombreux. Il est parfois plus aisé de les réaliser à deux.
 - si, compte tenu du contexte, les conditions d'asepsie n'ont pas pu être respectées, il faudra faire ATTENTION à l'interprétation des résultats. En toute rigueur, il faudrait alors refaire des prélèvements aseptiques sur les animaux trouvés positifs pour confirmer leur statut.
- il est préférable de prélever un flacon par quartier ou demi-mamelle ; pour limiter les coûts d'analyse, il est possible de procéder à des analyses de petits mélanges. Pour cela, le laboratoire peut regrouper les prélèvements effectués sur un même animal, voire sur plusieurs animaux (petits ruminants si la taille du cheptel le nécessite).

Chez la chèvre par exemple, on propose ainsi de réaliser des lots de cinq animaux. Il est également envisageable de traire dans un même flacon le lait de plusieurs quartiers ou demi-mamelles, voire de plusieurs femelles mais il est alors extrêmement difficile de ne pas contaminer l'échantillon et la recherche par animal nécessite un prélèvement supplémentaire. Attention à ce que cela ne se traduise pas finalement par une perte de temps préjudiciable à la gestion de l'urgence.

- si les prélèvements ont été conduits de manière aseptique, il est possible de demander au laboratoire, en plus des analyses de dénombrement de staphylocoques à coagulase positive, d'ensemencer avec le lait non dilué une gélose au sang : si plus de trois espèces bactériennes différentes poussent sur la gélose au sang, le prélèvement peut être considéré comme contaminé et ses résultats jugés non interprétables. Les dénombrements permettront d'orienter les mesures de maîtrise à prendre, notamment les réformes et les traitements, mais attention les quantités de germes excrétées d'un jour sur l'autre peuvent être assez variables. (Voir aussi la fiche « **PRELEVEMENTS** »).

Attention il s'agit de manipuler des animaux
 ➔ éventuellement vérifier auprès de votre employeur que vous êtes bien assuré !

Tableau 1: avantages, inconvénients et points importants à vérifier pour le regroupement de prélèvements (pool) au laboratoire pour limiter le nombre d'analyses

Avantages	Inconvénients	Points à vérifier
Limite le coût	La contamination est diluée et on risque de ne pas la retrouver si elle est faible ou ne concerne qu'un nombre réduit d'animaux (ou de quartiers)	Conservation des échantillons au froid afin de faire des analyses individuelles si le pool est non satisfaisant
	Prend un peu plus de temps	S'être bien mis d'accord avec le laboratoire sur le procédé

ANNEXE 3 : LES ESCHERICHIA COLI PRODUCTEURS DE SHIGA-TOXINES (STEC)

Les Escherichia coli producteurs de shiga-toxines (STEC) :

Les E. coli font partie des hôtes habituels de l'intestin chez l'homme comme chez les animaux. Si la plupart sont sans danger, certaines souches peuvent être à l'origine de diverses affections chez l'homme. Il en existe une catégorie très particulière que les scientifiques appellent STEC car elles sont éventuellement susceptibles de produire des toxines appelées shiga-toxines (STEC = E. coli producteurs de shiga-toxines). Ce sont notamment ces toxines qui sont responsables de diarrhées sanglantes. Celles-ci peuvent se compliquer par une insuffisance rénale appelée SHU pour Syndrome Hémolytique et Urémique. Les jeunes enfants et les personnes âgées sont les plus sensibles aux effets de ces toxines. Dans certains cas rares, les conséquences peuvent être extrêmement graves et laisser des séquelles, voire entraîner la mort. En se contaminant à partir de l'environnement, les ruminants sont les principaux réservoirs de ces bactéries, mais d'autres animaux d'élevage ou sauvages peuvent aussi les véhiculer (gibiers, volailles, rongeurs...). Les ruminants contaminés hébergent les STEC dans leur tube digestif sans être malades : ils sont donc porteurs sains. Les animaux jeunes sont les plus fréquemment porteurs.

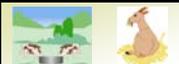
La survie des STEC dans l'environnement de la ferme peut être très longue (plusieurs mois) et l'eau peut en être un vecteur. Toutes les souches de STEC ne sont pas pathogènes. Certaines souches sont plus particulièrement responsables d'infections graves chez l'homme. C'est notamment le cas de E. coli O157:H7 et à moindre degré de E. coli O26, O103, O111... (voir avis de l'AFSSA du 15 juillet 2008, du 27 mai 2010 et avis de l'Anses du 11 janvier 2011).

De plus, la biologie de ces bactéries reste encore mal connue, notamment car les méthodes d'analyse de routine manquent pour les étudier. La contamination fécale indirecte est vraisemblablement la voie majeure de contamination du lait même si l'hypothèse d'une excrétion mammaire lors de mammite clinique ou sub-clinique, bien que vraisemblablement rare, ne peut pas être théoriquement écartée. Les études menées à ce jour ne permettent pas de dégager des priorités vis-à-vis des mesures préventives à recommander aux éleveurs. Cependant, dans les exploitations dont l'environnement est contaminé, on peut considérer que c'est l'ensemble des mesures d'hygiène permettant d'éviter la dissémination des bactéries dans les étables, sur les mamelles et lors de la traite qui devront être systématiquement et rigoureusement appliquées pour prévenir la contamination accidentelle du lait.

En ce qui concerne la fromagerie, les STEC ne résistent pas à l'ensemble des désinfectants usuels et n'ont pas d'aptitudes particulières à former des biofilms. La contamination ne semble donc pas s'installer en fromagerie et vient vraisemblablement le plus souvent du lait matière première.

ANNEXE 4 : RECAPITULATIF DES PRINCIPALES SOURCES DE CONTAMINATION ET DE MULTIPLICATION EN ELEVAGE ET EN FABRICATION POUR LES « QUATRE PATHOGENES » (EXTRAITS DU GUIDE DES BONNES PRATIQUES D'HYGIENE POUR LES FABRICATIONS DE PRODUITS LAITIERS ET FROMAGES FERMIER)

Principales sources de contamination / Elevage

■ Contamination ✗ Multiplication		<i>Staph aureus</i>	<i>Listeria mono</i>	<i>E. Coli</i>	<i>Salmonella</i>
	Aliments, eau contaminés		■	■	■
	Litière contaminée, sol boueux, fumier contaminé		■	■	■
Traite 	Mamelle souillée		■	■	■
	Mamelle infectée	■	■	?	■
	Hygiène/technique	■	■	■	■
	Machine à traire	■	■	■	■
	T°C, vitesse refroidissement	✗	✗	✗	✗
	Nettoyage, entretien	■	■	■	■

1

Principales sources de contamination spécifiques / Beurre et crème

■ Contamination ✗ Multiplication		4 germes indésirables	Technologies concernées
Ecrémage	Ecrémage réalisé tardivement	✗	
Ensemencement	Levain contaminé	■	
Maturation	Acidification insuffisante	✗	
Stockage de la crème	Refroidissement trop lent 	✗	
Préparation de la crème	Température non adaptée	✗	
Lavage	Babeurre enlevé en quantité insuffisante	✗	
Malaxage	Mauvaise répartition de l'eau	✗	
Salage 	Sel contaminé	■	

3

Principales sources de contamination spécifiques / Fromages

■ Contamination ✗ Multiplication		4 germes indésirables	Technologies concernées
Ensemencement Maturation Caillage	Maturation non maîtrisée	✗	Toutes
	Acidité insuffisante	✗	P.pers+lact+prés+frais
	Levain, présure contaminé	■	Toutes
	Défaut d'égouttage	✗	Toutes
	Chauffage non maîtrisé	Non destruction	Pâtes pressées cuites
Délactosage	Eau contaminée	■	Pâtes pressées non cuites
Pressage	Vitesse acidification insuffisante	✗	Pâtes pressées
	Sel ou saumure contaminée	■	Toutes
Affinage	Soins non maîtrisés	✗ ■	Pâtes molles présure/PPNC/PPC
Ambiance	T°C, hygrométrie, ventilation	✗	Toutes

2

Principales sources de contamination spécifiques / Laits fermentés, gélifiés, emprésurés

■ Contamination ✗ Multiplication		4 germes indésirables	Technologies concernées
Préparation du lait	Ingrédients contaminés	■	Tous
Pasteurisation	Pasteurisation mal maîtrisée	✗	Tous
Refroidissement	Refroidissement lent	✗	Fermentés
Ensemencement	Ferment contaminé	■	Fermentés
Ajout arôme	Prélèvement contaminé	■	Fermentés + gélifiés
Ajout présure	Présure contaminée	■	Emprésurés
Etuvage	Acidification insuffisante	✗	Fermentés
Refroidissement	Refroidissement trop lent	✗	Tous
Préparation de fruits	Prélèvements contaminés	■	Yaourts brassés

4

Principales sources de contamination / Sortie fromagerie

■ Contamination ✗ Multiplication		4 germes indésirables	Technologies concernées
Emballage Stockage	Emballage 	■ ✗	Toutes
	Température, durée  	✗	Toutes
Hygiène générale	Nettoyage matériel, locaux, eau potable 	■	Toutes
	Hygiène du personnel, visiteurs	■	Toutes

5

Synthèse / Transformation

■ Contamination ✗ Multiplication		4 germes indésirables
Ajout d'additifs	Levains/présure/sel/saumure... etc contaminés	■
Acidification (sauf produits présure)	Acidification trop lente ou insuffisante	✗
Teneur en eau 	Egouttage (fromage), lavage/malaxage pour beurre... non maîtrisés	✗
Traitement thermique (le cas échéant)	Pasteurisation ou chauffage non maîtrisé	✗
Emballage Stockage Vente Distribution 	Emballage	✗ ■
	Température, durée	✗
Hygiène générale 	Nettoyage matériel, locaux, eau potable	■
	Hygiène du personnel, visiteurs	■

6