

OUTILS POUR AIDER LA FILIÈRE FROMAGÈRE À IDENTIFIER ET DIMINUER LES BACTÉRIES BUTYRIQUES DANS LE LAIT

Carole Lafrenière, Marie-Andrée Sylvestre,
Mathieu Laplante et Thomas Paquin-Roy

No de projet : IA214190

Durée : 08/2014 – 06/2015

FAITS SAILLANTS

Ce projet a permis :

- D'adapter un milieu de culture gélosé pour faire germer et assurer la croissance des spores butyriques y compris celles de *Clostridium tyrobutyricum*.
- La détection de *Clostridium tyrobutyricum*, impliqué dans le gonflement tardif des fromages, est possible par la détection de l'enzyme lactate déshydrogénase (LDH) directement sur le milieu gélosé Reinforced Clostridial Agar (RCA) additionnée de 200 ppm de D-cycloserine.
- La concentration des spores par filtration permet l'obtention d'un seuil de détection de 10 spores/litre de lait.
- La rédaction d'un guide des bonnes pratiques (GBP), ce qui devrait permettre de diminuer les spores butyriques à la ferme dans l'environnement de la vache et, conséquemment, diminuer la contamination du lait cru par les spores butyriques.
- De constater le manque de connaissances sur l'occurrence de la contamination des spores butyriques dans le lait cru au Québec ainsi que le manque de données pour les mesures d'atténuation du GBP, en particulier des données sur l'efficacité des additifs à ensilages pour inhiber le développement des spores butyriques dans différentes conditions d'ensilage.

OBJECTIF(S) ET MÉTHODOLOGIE

Le présent projet avait pour objectifs : 1- Adapter le milieu Reinforced Clostridial Agar (RCA) pour qu'il soit plus sélectif pour le dénombrement de *C. tyrobutyricum* en le combinant avec la technique de filtration pour augmenter la sensibilité de détection des spores butyriques dans le lait cru et; 2- Rédiger un guide des bonnes pratiques (GBP) sur les ensilages pouvant permettre de limiter les spores butyriques dans l'environnement de la vache et ainsi diminuer la contamination du lait lors de la traite.

L'adaptation du milieu et la mise au point de la méthode de filtration ont été réalisées avec des souches de l'American Type Culture Collection (ATCC) dont *Clostridium butyricum* (ATCC 19398), *C. tyrobutyricum* (ATCC 25755), *C. sporogenes* (ATCC 11437), *C. bifermentans* (ATCC BAA791), *Bacillus cereus* (10876) et *B. licheniformis* (10716). La méthode a ensuite été testée en conditions pratiques à la Fromagerie Bergeron. Le guide technique sur les bonnes pratiques pour la fabrication des ensilages a été rédigé à partir de la littérature scientifique et des connaissances québécoises dans le domaine des ensilages.

RÉSULTATS SIGNIFICATIFS POUR L'INDUSTRIE

Le dénombrement de *C. tyrobutyricum* sur le milieu Reinforced Clostridial Agar (RCA, Oxoid) additionné de 200 ppm de D-cycloserine est possible grâce à la détection de l'enzyme lactate déshydrogénase (LDH) à l'aide d'un sel de tétrazolium, soit l'iodo nitrotétrazolium chloride (INT). La détection de l'enzyme lactate déshydrogénase (LDH) est faite directement sur le milieu gélosé. La rapidité de la réaction et la couleur rouge foncé sont les deux critères utilisés pour déterminer qu'il s'agit de *C. tyrobutyricum*. Les autres colonies sur la membrane filtrante colorent rose pâle après 1 ou 2 minutes, permettant ainsi le dénombrement total des colonies sur la membrane filtrante déposée sur le milieu RCA. Avec la concentration des spores par filtration, il est possible d'atteindre un seuil de détection de 10 spores L⁻¹ de lait lorsque 100 ml de lait est filtré. La méthode nécessite plusieurs manipulations et la préparation de plusieurs réactifs dans des séquences précises, mais l'obtention des résultats est plus rapide et plus sensible que la méthode du Nombre Plus Probable (NPP) en regard du nombre de spores de *Clostridium* et de *Bacillus*.

Un guide des bonnes pratiques (GBP) a été rédigé. Le guide explique d'abord le cycle des *Clostridium* et leur présence sur la ferme. Par la suite, trois points critiques de contrôle à la ferme ont été identifiés soit : 1- la contamination de la plante par le sol et/ou l'application de matières résiduelles fertilisante lors de la récolte; 2- le silo en lien avec une mauvaise fermentation lactique et/ou un manque de stabilité aérobie; 3- la contamination du lait par les trayons lors de la traite. Pour chacun des points critiques, les mesures d'atténuation connues y sont décrites. Ce guide a permis de mettre en lumière le manque de connaissances qui permettrait la mise en place d'une meilleure stratégie pour inhiber le développement des spores butyriques.

APPLICATIONS POSSIBLES POUR L'INDUSTRIE ET/OU SUIVI À DONNER

La méthode de filtration du lait peut être utilisée pour le lait de vache, mais ne peut être utilisée pour le lait de brebis. Des résultats récents ont toutefois démontré que cela était possible. La technique est à vérifier.

Des travaux techniques et de recherche doivent être poursuivis. Pour la recherche, l'origine de la couleur rosée doit être déterminée pour savoir s'il s'agit d'une réaction abiotique ou une plus faible concentration de l'enzyme LDH. Du côté technique, la corrélation avec la méthode NPP et la concentration des spores doivent être déterminées de même que la variation dans le temps.

Quant au guide des bonnes pratiques, il serait intéressant de le valider en conditions pratiques avec des additifs à ensilage spécifiques à l'inhibition du développement des *Clostridium*.

POINT DE CONTACT POUR INFORMATION

Nom du responsable du projet : Carole Lafrenière, agr. Ph. D.

Téléphone : (819) 762-0971, poste 2396

Télécopieur : (819) 797-4727

Courriel : carole.lafreniere@uqat.ca

REMERCIEMENTS AUX PARTENAIRES FINANCIERS

Ces travaux ont été réalisés grâce à une aide financière du Programme de soutien à l'innovation en agroalimentaire, un programme issu de l'accord du cadre Cultivons l'avenir conclu entre le ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation et Agriculture et Agroalimentaire Canada.

La participation de M. Thomas Roy Paquin et de l'équipe de contrôle de qualité de la Fromagerie Bergeron a été grandement appréciée pour la réalisation de ce projet.