

# Challenge-test sur *Listeria monocytogenes* : L'exemple concret du beurre au lait cru

**Valérie MICHEL**

Pôle Microbiologie Laitière

ACTALIA Unité produits laitiers



*Les rendez-vous de la diversification – 27/01/16 - Gembloux*

# Plan

- **Présentation d'ACTALIA et du RMT QUALIMA**
- **Réglementation européenne et *L. monocytogenes* dans les produits laitiers**
- **Challenge-tests (tests de croissance) :**
  - Intérêts ?
  - Conditions de mise en œuvre
  - Interprétation des résultats d'un test de croissance
- **Cas concret : tests de croissance en beurre fermier au lait cru de vache**

# Présentation d'ACTALIA

Centre d'expertise agroalimentaire  
qualifié Institut Technique Agro-Industriel par  
le Ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt



- **TECHNOLOGIE FROMAGERE & MICROBIOLOGIE LAITIERE**
- **INNOVATION TECHNOLOGIQUE – Produit / process**
- **ENVIRONNEMENT & DD**
- **INGENIERIE DE FORMATION**
- **VEILLE DOCUMENTAIRE SCIENTIFIQUE & TECHNIQUE**

*Recherche – Transfert - Expertise – Conseils*

*Prestations analytiques d'expertise*



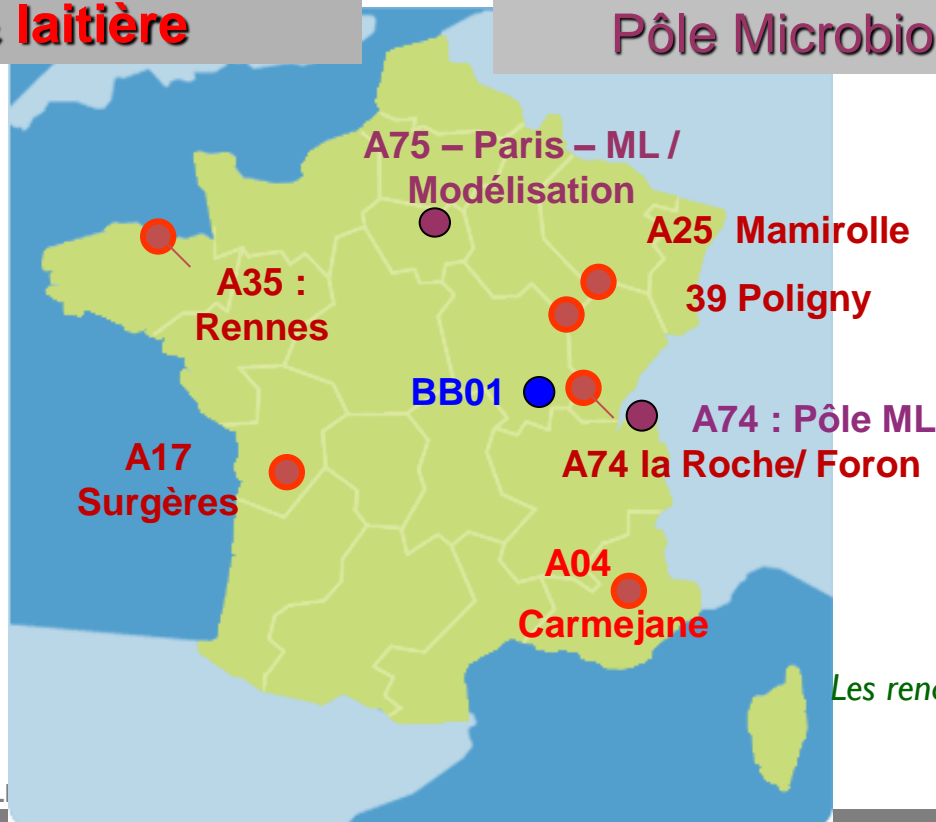
**Le pôle développe et propose depuis plus de 45 ans, des compétences  
uniques en technologie fromagère et microbiologie laitière,  
reconnues en France et à l'international**



Une équipe pluridisciplinaire : 33 personnes sur 8 sites  
6 Dr Ingénieurs, 15 Ingénieurs, 9 Techniciens spécialisés et 3 adm.

**Pôle Technologie  
fromagère & laitière**

**Pôle Microbiologie Laitière**



*Les rendez-vous de la diversification  
– 27/01/16 - Gembloux*

## ITAI : une double vocation

↳ **Des missions et recherches d'intérêt général** pour l'amélioration des connaissances et le développement d'outils spécifiques pour la filière laitière

▶ ▶ ▶ **Ressourcement continu des spécialistes & Transfert**

↳ **Des prestations privées** : expertises, études, analyses, conseils, formations, audits, recherche privée.

▶ ▶ ▶ **Transformateurs laitiers** (groupes industriels, PME, TPE, fermiers), affineurs, syndicats de produits, distributeurs, fournisseurs d'ingrédients,...

[www.actalia.eu](http://www.actalia.eu)

*Les rendez-vous de la diversification – 27/01/16 - Gembloux*

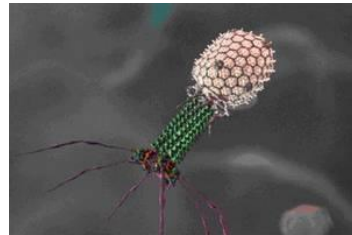
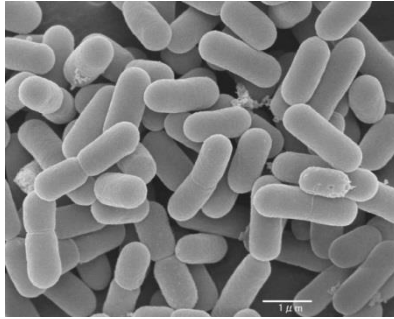
## ► Des prestations sur-mesure

- Recherche privée PME et Grands comptes
- Mise au point de procédés (*ex. caillés modèles / flores d'intérêt ou pathogènes*)
- Innovation technologique Produit-Process
- Conseils en développement / réduction du taux de sel
- Appui technique, suivi qualité pour les syndicats de produits traditionnels
- Expertise, conseil / résolutions de problèmes de fromagerie (*optimisation technologique, amélioration de rendements, qualités nutritionnelles des fromages etc.*).
- Expertise en ferments lactiques et propioniques
- Expertise au niveau de la maîtrise de l'arôme des fromages par le contrôle des écosystèmes
- Réalisation d'essais sur plateforme normalisée pour GC & Centres R&D
- Ingénierie de formation : transformateurs fermiers, artisans, industriels,...



[www.actalia.eu](http://www.actalia.eu)

*Les rendez-vous de la diversification –  
27/01/16 - Gembloux*



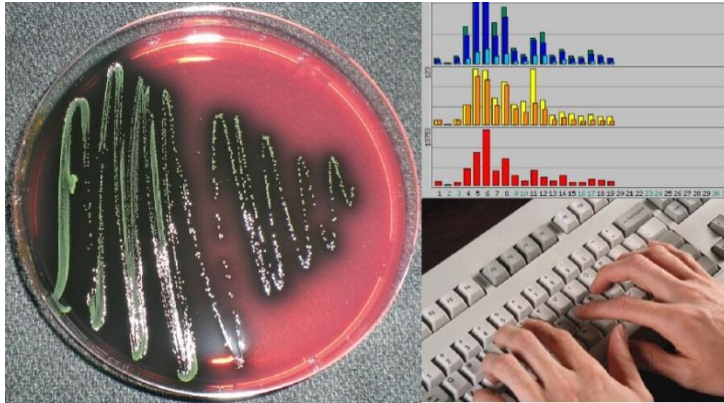
Une expertise et des méthodes pour répertorier, comprendre et maîtriser la biodiversité des écosystèmes microbiens

## Pôle Microbiologie Laitière

### Microbiologie d'intérêt laitier

- **Isolement, identification et caractérisation** des différentes flores technologiques, d'altération et pathogènes,
- **Sélection personnalisée de ferments** pour des objectifs technologiques déterminés,
- **Conservation et entretien sur le long terme de matériel biologique confié** (bactéries, levures, phages, écosystèmes complets...),
- **Expertise** dans le domaine des bactériophages de bactéries lactiques.

[www.actalia.eu](http://www.actalia.eu)



Pour prévenir et maîtriser le risque pathogène, et agir efficacement en cas de crise

- **AQR\*** combine modélisation du process et du comportement bactérien pour estimer le niveau de contamination aux différentes étapes de la vie du produit

- **Accompagnement** pour la mise en place de plans de maîtrise sanitaire (HACCP...),

- **Etude du comportement des produits** pour suivre l'évolution des microorganismes indésirables artificiellement inoculés (**challenge-tests**) ou prédire l'évolution des germes indésirables en fonction des caractéristiques du produit (*par utilisation de Sym'previus*)

[www.actalia.eu](http://www.actalia.eu)

Les rendez-vous de la diversification – 27/01/16 - Gembloux





## UNE EXPERTISE AU SERVICE DES ENTREPRISES ET DES POUVOIRS PUBLICS

*Par la mise en commun de compétences et de moyens techniques,  
le RMT apporte des réponses concrètes aux consommateurs,  
aux entreprises et aux pouvoirs publics sur :*

- la validation des mesures de maîtrise afin d'assurer la sécurité et la qualité microbiologique des aliments;*
- la validation des procédés de production en tenant compte de leur impact sur l'état physiologique des micro-organismes;*
- l'optimisation de la surveillance dans les entreprises agro-alimentaires.*

*Les rendez-vous de la diversification – 27/01/16 - Gembloux*

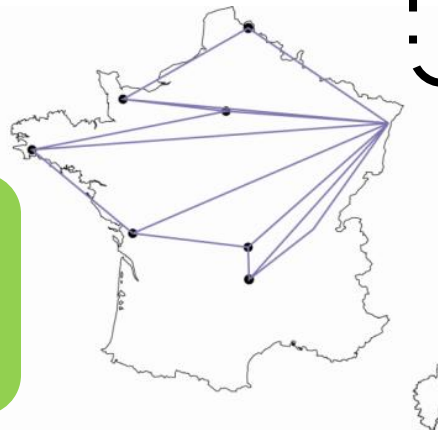


## Les partenaires

### ITAI

Actalia, ADIV, ADRIA,  
Aérial, CTCPA, IFIP

Etablissement  
d'enseignement supérieur  
ENVA



### Organismes de recherche

Irstea / Inra Theix /  
Université Blaise Pascal Clermont  
Ferrand  
Anses

### Etablissements d'enseignements agricoles

ENIL St Lô Thère, ENILBIO,  
Lycée Louis Mallet St Flour

CNIEL – cellule AQR

DGAL, BZMA

ACTIA, DGER

Les rendez-vous de la diversification – 27/01/16 - Gembloux



## Objectifs du RMT Actia QUALIMA

**..sont de déterminer les méthodologies**

- ➔ 1. Validation de l'efficacité des mesures de maîtrise (PrPO; CCP) de la qualité et de la sécurité microbiologiques des aliments,**
- ➔ 2. Validation des procédés et la prise en compte de l'impact des procédés sur la physiologie bactérienne,**
- ➔ 3. Optimisation des plans d'auto-contrôles.**



## Pré-requis – points clefs

1. Caractériser les procédés : salage, traitement thermique, refroidissement, .....
2. Caractériser l'aliment : gradient NaCl, cartographie teneur en eau
3. Modéliser : études de cas (procédé/souche/aliment)
4. Identifier les besoins en R&D nécessaires pour générer les données manquantes

Acquisition de données  
« terrain »

Exploitation des données existantes

Initier des projets

## ...Dans un objectif de

Contribuer à identifier les leviers à impact significatif sur l'exposition (germes pathogènes et flores d'altérations)

### CARACTÉRISER L'ALIMENT ET LES PROCÉDÉS

- Développer des méthodes d'acquisition de données
- Modéliser l'impact des caractéristiques de l'aliment et du procédé sur le comportement microbien
- Identifier et hiérarchiser les leviers de maîtrise
- Développer les démarches d'appréciation quantitative de l'exposition (AQE)

### UNE APPROCHE PLURIDISCIPLINAIRE

- Microbiologie des aliments et physico-chimie des aliments
- Transfert de masse et de chaleur dans l'aliment
- Génie des procédés alimentaires et frigorifiques
- Bio statistique et modélisation

### DES OUTILS MUTUALISÉS

- Bases de données sur les micro-organismes pathogènes et d'altération
- Bibliothèque d'outils de prévision du comportement microbien, de modélisation des procédés, de la chaîne du froid, dont [www.symprevius.org](http://www.symprevius.org)
- Laboratoires et halles pilote

### MIEUX CONNAÎTRE LE COMPORTEMENT DES MICRO-ORGANISMES

- Comprendre l'impact des stress dus aux procédés sur l'état physiologique des micro-organismes
- Étudier le comportement cellulaire en tenant compte de l'hétérogénéité de l'aliment
- Mieux prévoir la latence et la probabilité de croissance

### DIFFUSER ET PARTAGER LES CONNAISSANCES

- Avec les pouvoirs publics (DGAL, Anses)
- auprès des entreprises et interprofessions de l'agro-alimentaire (journées d'informations, tables rondes, formation)
- Avec la communauté scientifique au niveau international (publications d'articles techniques et scientifiques, colloques)
- Avec les acteurs de l'enseignement supérieur et technique

## Antériorité: Le RMT Actia « Durée de vie microbiologique des aliments » (07.2008-12.2013)

- Un partenariat structuré et une visibilité sur la thématique,
- Une action concertée entre la recherche, le transfert de l'innovation vers la filière alimentaire, l'expertise, la normalisation et la formation,
- Un catalyseur de travaux conjoints avec les pouvoirs publics et LR UE, les interprofessions et les entreprises.



*Les rendez-vous de la diversification – 27/01/16 - Gembloux*

## Objectifs prioritaires :

1. Constitution d'un réseau national dans le cadre du règlement (CE) 2073/2005
2. Evolution des moyens techniques de détermination de la durée de vie microbiologique des aliments
3. Vecteur de diffusion des outils opérationnels

→ **Un réseau au service des entreprises de l'agro-alimentaire et des pouvoirs publics.**

Journées de formation pour  
les opérateurs  
DVI

Participation à la rédaction Guide LRIE  
sur la réalisation  
*L. monocytogenes*

Développement expertise / projets  
*Ex: challenge-tests sporulés, EIL aw, mallette  
pédagogique DVM, microbiologie prévisionnelle...*

- Présentation d'ACTALIA et du RMT QUALIMA
- **Réglementation européenne et *Listeria monocytogenes* dans les produits laitiers**
- **Challenge-tests (tests de croissance) :**
  - Intérêts ?
  - Conditions de mise en œuvre
  - Interprétation des résultats d'un test de croissance
- **Cas concret : tests de croissance en beurre fermier au lait cru de vache**





ACTALIA  
PRODUITS LAITIERS



# Réglementation européenne et *L. monocytogenes*

## *Listeria monocytogenes* rappel

**Bactérie pathogène** transmissible à l'Homme par l'aliment

~100 %

- caractère ubiquitaire : présence dans l'eau, le sol, les végétaux
- se multiplie aux températures habituelles des réfrigérateurs
- persiste dans l'environnement

→ peut contaminer de façon durable les chaînes de production alimentaires



## Taxonomie

Genre *Listeria*: 19 espèces, 6 sous-espèces

*L. monocytogenes* : 13 sérotypes

## Listeriose

- formes materno-néonatales: incubations 14 à 88 j
- septicémie, méningites, infect. locales
- formes neuro-méningées: 2 à 19 j, syndrome pseudo-grippal, avortement Infection néonatale
- **Taux de létalité : 25 à 30%, taux d'hospitalisation >92% (source Anses)**

## DANGER

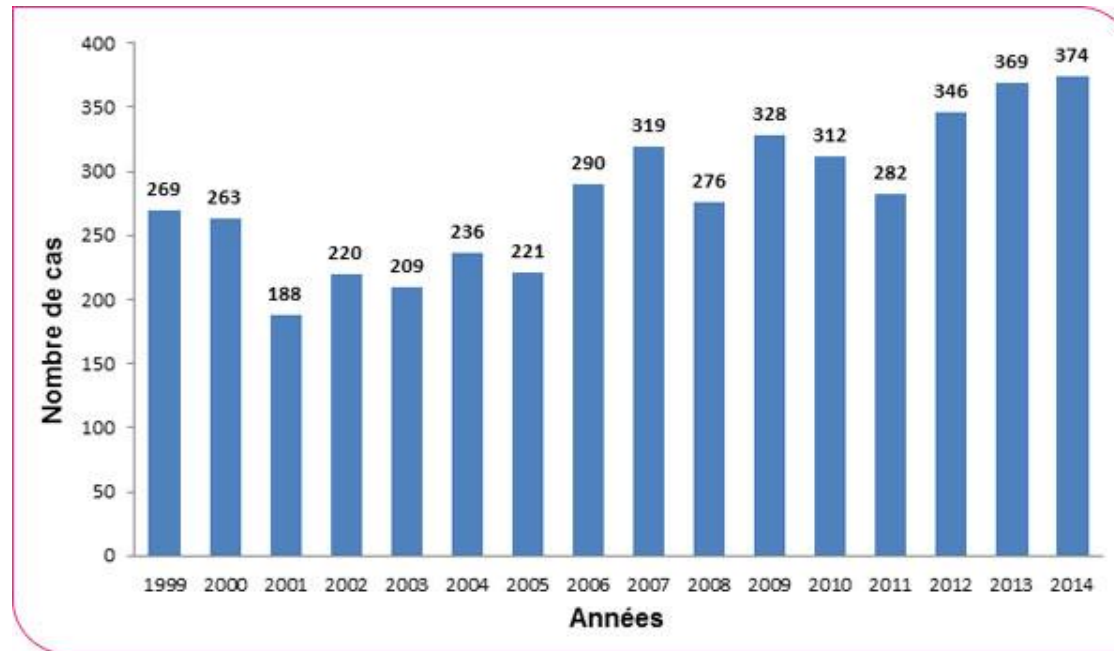


Règlement (CE) n° 2073/2005  
« Aliments prêt-à-consommer  
qui permettent la croissance  
*L. monocytogenes* »

# Réglementation européenne et *L. monocytogenes*

## *Listeria monocytogenes* incidence

Nombre de cas /an en France de 1999 à 2014  
(source InVs, nov 15)



Un pathogène ... **toujours présent** et pour lequel, malgré l'optimisation des mesures de maîtrise dans les IAA, **l'incidence augmente en France et en Europe**

*Les rendez-vous de la diversification – 27/01/16 - Gembloux*

# Réglementation européenne et *L. monocytogenes*

*Listeria monocytogenes* matrices alimentaires concernées

## Classement des 50 couples dangers aliments sur la base QALY, Quality Adjusted Life Year, aux USA (Batz et al., 2012)

Produits carnés, **produits laitiers**, produits « composites » dans les produits les plus concernés par *Listeria monocytogenes*

...

Alertes *L. monocytogenes* et fromages au lait cru

en 2015, RASFF → Alertes très nombreuses !

1	Campylobacter poultry	26	<u>L. monocytogenes-seafood</u>
2	T. gondii-pork	27	Campylobacter-produce
3	<u>L. monocytogenes-deli meats</u>	28	Norovirus-bakery
4	S. enterica-poultry	29	Norovirus-poultry
5	<u>L. monocytogenes-dairy</u>	30	<u>S. enterica-deli meats</u>
6	Norovirus-complex foods	31	Campylobacter-pork
7	<u>S. enterica-complex foods</u>	32	Campylobacter-beef
8	<u>S. enterica-produce</u>	33	T. gondii-poultry
9	<u>T. gondii-beef</u>	34	<u>S. enterica-bakery</u>
10	<u>S. enterica-eggs</u>	35	<u>C. perfringens-beef</u>
11	<u>L. monocytogenes-complex foods</u>	36	Vibrio other-seafood
12	<u>S. enterica-beef</u>	37	<u>C. perfringens-poultry</u>
13	<u>S. enterica-pork</u>	38	Norovirus-beef
14	Norovirus-produce	39	<u>Shigella-complex foods</u>
15	<u>S. enterica-dairy</u>	40	T. gondii-dairy
16	<u>Y. enterocolitica-pork</u>	41	Campylobacter-eggs
17	T. gondii-produce	42	E. coli O157:H7-produce
18	V. vulnificus-seafood	43	<u>C. perfringens-complex foods</u>
19	Campylobacter-dairy	44	T. gondii-deli meats
20	<u>S. enterica-seafood</u>	45	E. coli O157:H7-complex foods
21	<u>E. coli O157:H7-beef</u>	46	Norovirus-pork
22	Norovirus-seafood	47	<u>S. enterica-beverages</u>
23	<u>L. monocytogenes-pork</u>	48	<u>C. parvum-produce</u>
24	<u>L. monocytogenes-poultry</u>	49	Norovirus-dairy
25	<u>L. monocytogenes-produce</u>	50	Norovirus deli-meats

Remarques : seuls 14 pathogènes sont considérés (*S. aureus*, *B. cereus*, *C. botulinum* pas traités)

Les rendez-vous de la diversification – 27/01/16 - Gembloux

# Réglementation européenne et *L. monocytogenes*

Règlement CE 2073:2005 « critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires »

**Critères de Sécurité** : « définit l'acceptabilité d'un produit ou d'un lot, applicable au produit mis sur le marché »

→ si NC, pas de mise sur le marché

❖ *Listeria monocytogenes* : 2 cas de figure

1. « denrées alimentaires prêtes à être consommées et permettant le développement de *L. monocytogenes* »

→ **ABSENCE dans 25 g** (n=5, c=0), avant que la denrée n'ait quitté le contrôle du fabricant

2. « denrées alimentaires prêtes à être consommées et ne permettant pas le développement\* de *L. monocytogenes* »

→ **<100 ufc/g** (n=5, C=0), produits mis sur le marché **pendant toute leur durée de conservation**

\* Soumis à des valeurs de pH et d'aw (activité de l'eau) définies :

- pH<4,4 ou aw<0,92

- pH<5,2 et aw<0,94

ou preuves scientifiques

Dans les fromages, 0,94<aw<0,99,  
disponibilité en eau : pas un facteur limitant

*Les rendez-vous de la diversification – 27/01/16 - Gembloux*

# Réglementation européenne et *L. monocytogenes*

Règlement CE 2073:2005 « critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires »

2. « denrées alimentaires prêtes à être consommées et ne permettant pas le développement\* de *L. monocytogenes* »

\* Soumis à des valeurs de pH et d'aw (activité de l'eau) définies ou preuves scientifiques

→ Le respect du critère de sécurité doit être assuré par l'opérateur de la chaîne alimentaire (FBO) (art 3 du CE2073/2005)

2. Le cas échéant, les exploitants du secteur alimentaire responsables de la fabrication du produit conduisent des études conformément à l'annexe II afin d'examiner si les critères sont respectés pendant toute la durée de conservation. Cette disposition s'applique notamment aux denrées alimentaires prêtes à être consommées permettant le développement de *Listeria monocytogenes* et susceptibles de présenter un risque pour la santé publique lié à *Listeria monocytogenes*.



*L. monocytogenes* : moyens études proposées en annexe II du régl CE 2073/2005

Les entreprises du secteur alimentaire peuvent coopérer à la conduite des études susmentionnées.

Des lignes directrices pour la conduite de ces études peuvent être intégrées dans les guides de bonnes pratiques visés à l'article 7 du règlement (CE) n° 852/2004.

Les rendez-vous de la diversification – 27/01/16 - Gembloux

# Réglementation européenne et *L. monocytogenes*

## *L. monocytogenes* : moyens études proposées en annexe II du régl CE 2073/2005

### ANNEXE II

Les études visées à l'article 3, paragraphe 2, comprennent:

- la détermination des caractéristiques physicochimiques du produit, telles que pH,  $a_w$ , teneur en sel, concentration des conservateurs et système d'emballage, compte tenu des conditions d'entreposage et de transformation, des possibilités de contamination et de la durée de conservation prévue,
- la consultation de la littérature scientifique disponible et la recherche d'informations sur les caractéristiques de développement et de survie des micro-organismes concernés.

Le cas échéant, l'opérateur du secteur alimentaire mène, sur la base des études susmentionnées, des études complémentaires pouvant comporter:

- l'élaboration de modèles mathématiques prédictifs pour la denrée alimentaire en question, en utilisant des facteurs de croissance ou de survie critiques pour les micro-organismes concernés présents dans le produit,
- des essais visant à étudier la capacité du micro-organisme en question inoculé de manière appropriée à se reproduire ou à survivre dans le produit dans différentes conditions d'entreposage raisonnablement prévisibles,
- des études visant à évaluer la croissance ou la survie des micro-organismes en question qui peuvent être présents dans le produit pendant sa durée de conservation dans des conditions de distribution, d'entreposage et d'utilisation raisonnablement prévisibles.

Les études susmentionnées tiennent compte de la variabilité inhérente au produit, aux micro-organismes en question ainsi qu'aux conditions de transformation et d'entreposage.

*Les rendez-vous de la diversification – 27/01/16 - Gembloux*

# Réglementation européenne et *L. monocytogenes*

## *L. monocytogenes* : moyens études proposées en annexe II du régl CE 2073/2005

### ANNEXE II

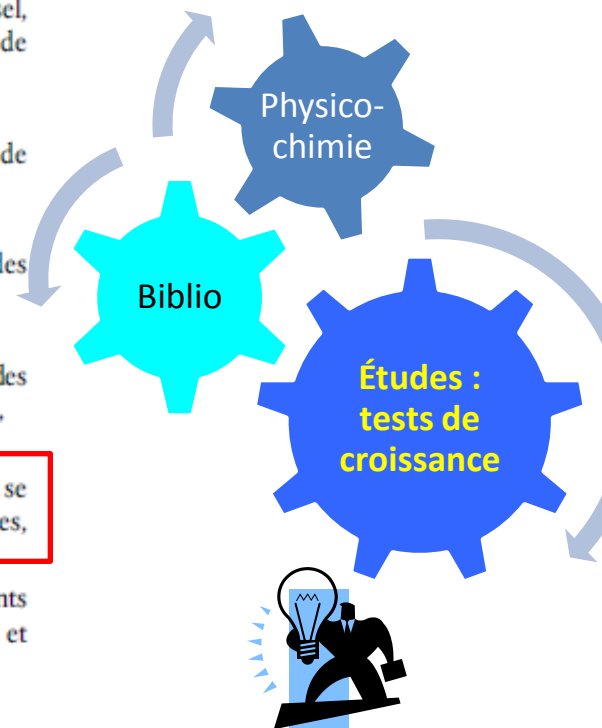
Les études visées à l'article 3, paragraphe 2, comprennent:

- la détermination des caractéristiques physicochimiques du produit, telles que pH,  $a_w$ , teneur en sel, concentration des conservateurs et système d'emballage, compte tenu des conditions d'entreposage et de transformation, des possibilités de contamination et de la durée de conservation prévue,
- la consultation de la littérature scientifique disponible et la recherche d'informations sur les caractéristiques de développement et de survie des micro-organismes concernés.

Le cas échéant, l'opérateur du secteur alimentaire mène, sur la base des études susmentionnées, des études complémentaires pouvant comporter:

- l'élaboration de modèles mathématiques prédictifs pour la denrée alimentaire en question, en utilisant des facteurs de croissance ou de survie critiques pour les micro-organismes concernés présents dans le produit,
- des essais visant à étudier la capacité du micro-organisme en question inoculé de manière appropriée à se reproduire ou à survivre dans le produit dans différentes conditions d'entreposage raisonnablement prévisibles,
- des études visant à évaluer la croissance ou la survie des micro-organismes en question qui peuvent être présents dans le produit pendant sa durée de conservation dans des conditions de distribution, d'entreposage et d'utilisation raisonnablement prévisibles.

Les études susmentionnées tiennent compte de la variabilité inhérente au produit, aux micro-organismes en question ainsi qu'aux conditions de transformation et d'entreposage.



Combinaisons d'outils

Les rendez-vous de la diversification – 27/01/16 - Gembloux

- Présentation d'ACTALIA et du RMT QUALIMA
- Réglementation européenne et *Listeria monocytogenes* dans les produits laitiers
- **Challenge-tests (tests de croissance) :**
  - Intérêts ?
  - Conditions de mise en œuvre
  - Interprétation des résultats d'un test de croissance
- **Cas concret : tests de croissance en beurre fermier au lait cru de vache**



# Challenge-tests

**Définition** Challenge-tests = Test de croissance

## test de croissance

étude de l'évolution de la population bactérienne ajoutée dans un aliment, comportant le dénombrement de la population initiale ajoutée

*NF V01-009 (lignes directrices pour la réalisation de tests de croissance microbiologique)*

Inoculer **artificiellement** un produit alimentaire et suivre le comportement du micro-organisme

→ Reproduire une situation réelle.... en conditions de laboratoire et/ou de halle expérimentale et suivre le comportement d'un petit nombre de pathogènes dans un produit alimentaire souvent complexe !



# Challenge-tests : intérêts ?

## Pourquoi faire un test de croissance ?

Connaître le comportement d'un micro-organisme dans son produit

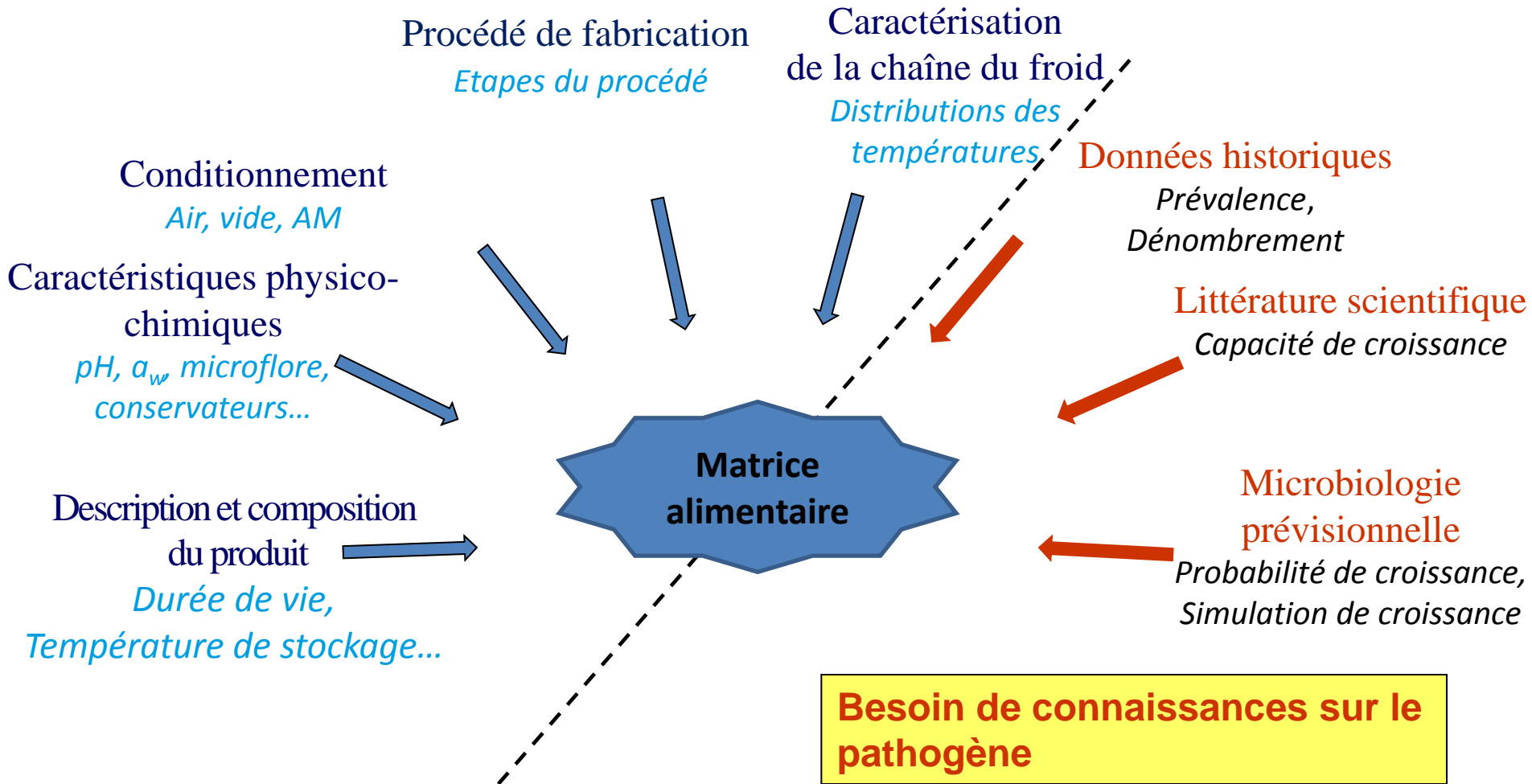
→ respect des critères de sécurité du CE 2073/2005

→ Pour *Listeria monocytogenes*, < 100 UFC/g tout au long de la conservation ?

A faire quand pas de bibliographies disponibles, pas de données d'autocontrôles, de tests de vieillissements, pour une recette particulière, etc...

# Challenge-tests : conditions de mise en œuvre

## Besoin de connaissances sur le produit



Les rendez-vous de la diversification – 27/01/16 - Gembloux

# Challenge-tests : conditions de mise en œuvre



## Réalisation des challenge-tests

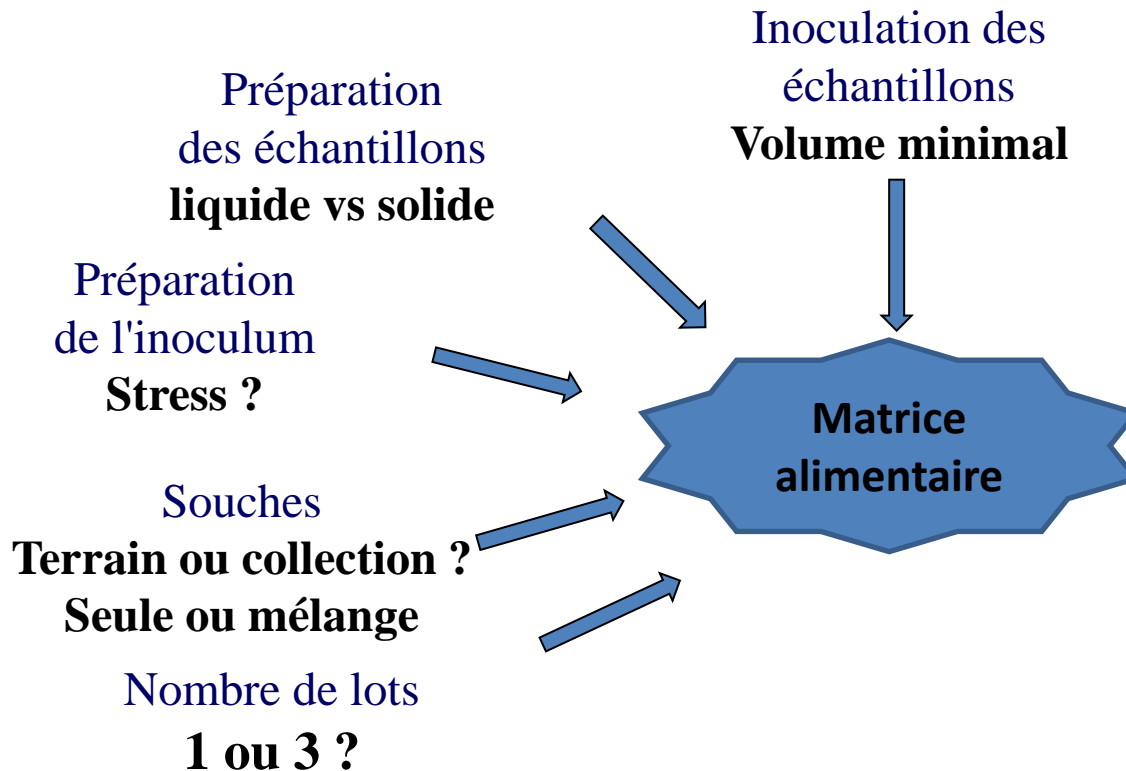


EURL Lm

European Union Reference Laboratory for

*Listeria monocytogenes*

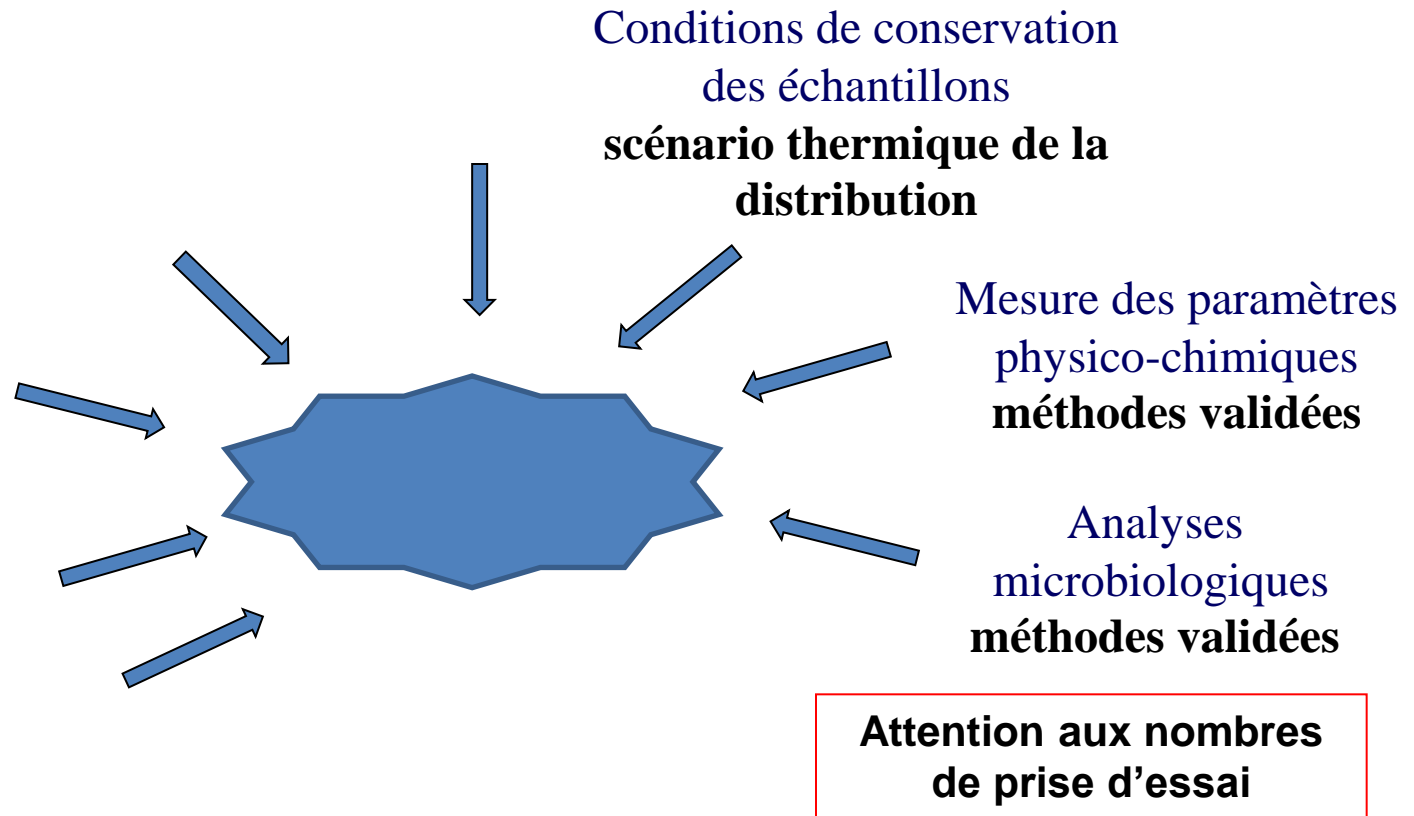
**EURL Lm TECHNICAL GUIDANCE DOCUMENT  
for conducting shelf-life studies on *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods  
Version 3 – 6 June 2014**



Les rendez-vous de la diversification – 27/01/16 - Gembloux

# Challenge-tests : conditions de mise en œuvre

## Réalisation des challenge-tests



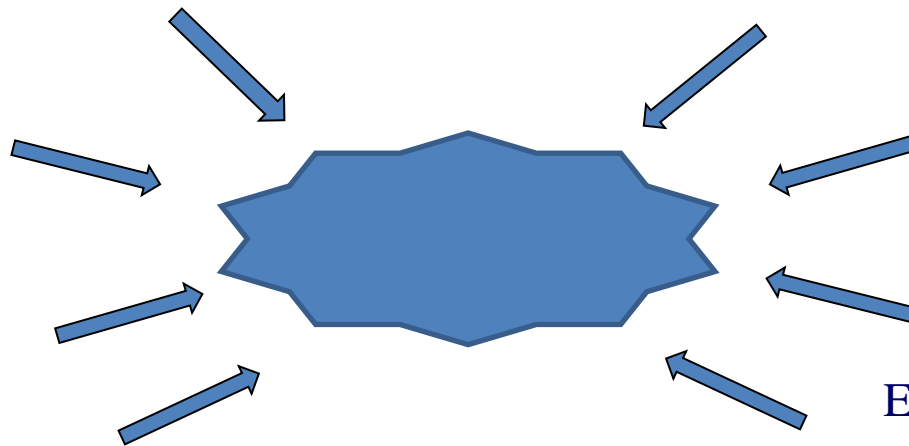
# Challenge-tests : interprétation des résultats

## Réalisation des challenge-tests

### potentiel de croissance (noté $\delta$ )

différence entre le logarithme décimal de la concentration d'une population bactérienne en fin de test de croissance et le logarithme décimal de sa concentration initiale (voir Annexe A)

Ex : 100 000 UFC/g en fin de test = 5  $\log_{10}$  UFC/g  
100 UFC/g en début de test = 2  $\log_{10}$  UFC/g  $\rightarrow \delta = 3$  (5-2)



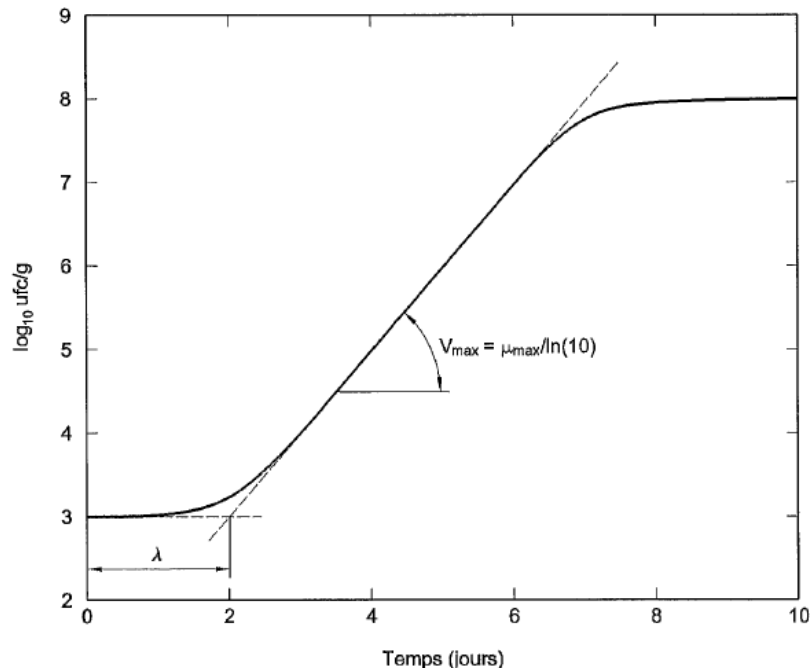
Estimation du potentiel de croissance ou du  $\mu_{\max}$  pour chaque lot

# Challenge-tests : interprétation des résultats

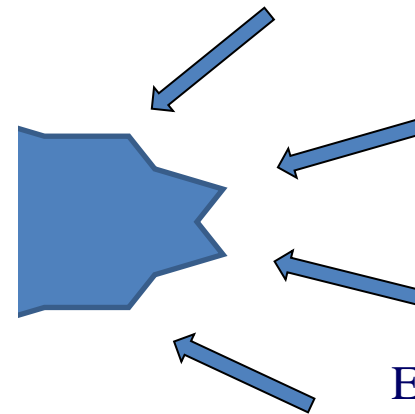
## Réalisation des challenge-tests

taux de croissance maximum  
(noté  $\mu_{\max}$ )

pente de la droite représentant l'évolution du logarithme népérien de la population bactérienne en fonction du temps pendant la phase de croissance exponentielle (voir Annexe A)



$\mu_{\max}$  spécifique du couple  
matrice/aliment



Estimation du potentiel de  
croissance ou du  $\mu_{\max}$  pour  
chaque lot

- **Présentation d'ACTALIA et du RMT QUALIMA**
- **Réglementation européenne et *Listeria monocytogenes* dans les produits laitiers**
- **Challenge-tests (tests de croissance) :**
  - Intérêts ?
  - Conditions de mise en œuvre
  - Interprétation des résultats d'un test de croissance
- **Cas concret : tests de croissance en beurre fermier au lait cru de vache**





ACTALIA  
PRODUITS LAITIERS

Projet Ferlis - Réa: « Détermination du respect de la limite de 100 ufc de *Listeria monocytogenes* / g durant le cycle de vie de produits laitiers »

Volet beurre à la crème crue de lait



ARVD



**Association des Vendeurs Directs  
de Produits Laitiers de Haute-Normandie**



FranceAgriMer

Financement FAM



# Des enquêtes terrain pour la caractérisation du produit

## Rappel

- dossier Ferlis (phase I de l'étude) = construction de protocoles d'étude à soumettre aux autorités sanitaires
- conclusion du dossier Ferlis volet beurre:
  - manque de données de terrain sur la caractérisation de la variabilité existante au niveau physico-chimique, malgré une bonne connaissance de la variabilité des procédés
  - manque de données scientifiques sur les capacités de développement de *Listeria monocytogenes* dans les beurres

→ nécessité de réaliser des enquêtes sur le terrain pour recueillir les données manquantes, en vue de construire un protocole expérimental pour réaliser des challenge-tests

# Des enquêtes terrain pour la caractérisation du produit

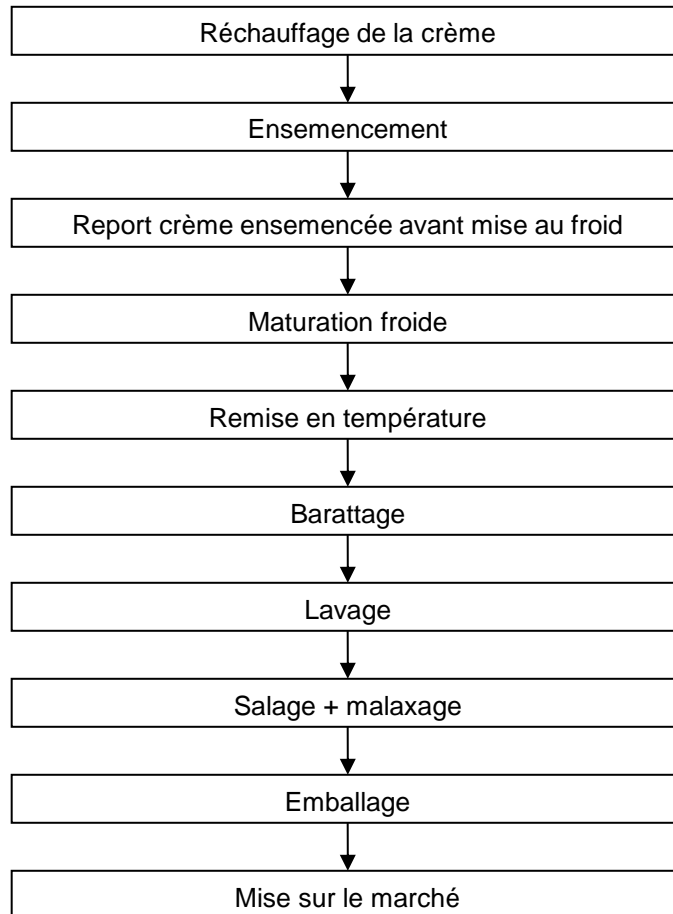
## Préparation et réalisation des enquêtes

- 40 enquêtes réalisées chez des producteurs de beurre fermier:
  - 20 enquêtes réalisées durant l'été 2012 (juillet à septembre) dans le Nord Pas-de-Calais par un stagiaire ARVD (Damien Walle)
  - 20 enquêtes réalisées durant l'hiver 2013 (décembre à mars) en Haute-Normandie par un agent AVDPL (Vinciane Vanier)

→ le traitement des données issues des 40 enquêtes a permis de construire un diagramme de fabrication moyen, pour la réalisation des challenge-tests

# Protocole expérimental (1/6)

## Diagramme de fabrication



validation du protocole de réalisation Ch-T beurre par les professionnels

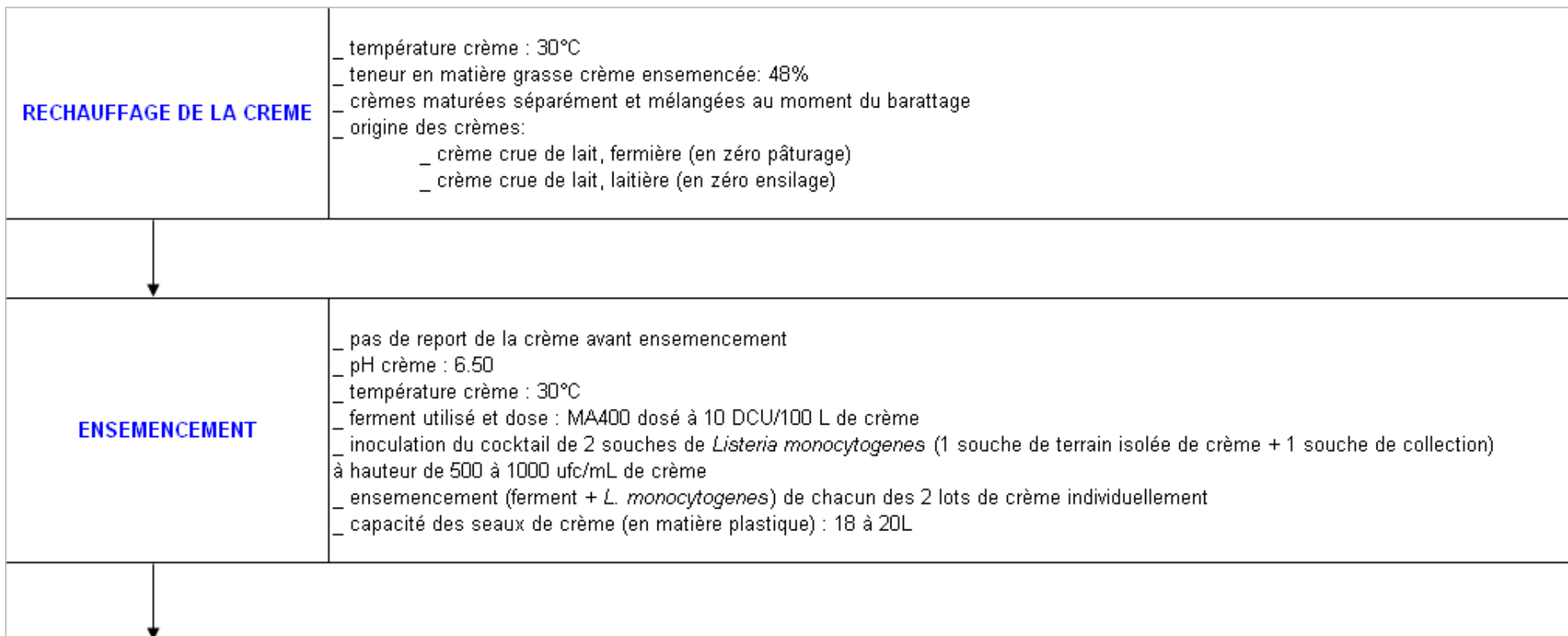
## Résumé du diagramme de fabrication

avec description précise des caractéristiques de  $T^{\circ}$ , pH, temps... de chacune des étapes

# Protocole expérimental (1/6)

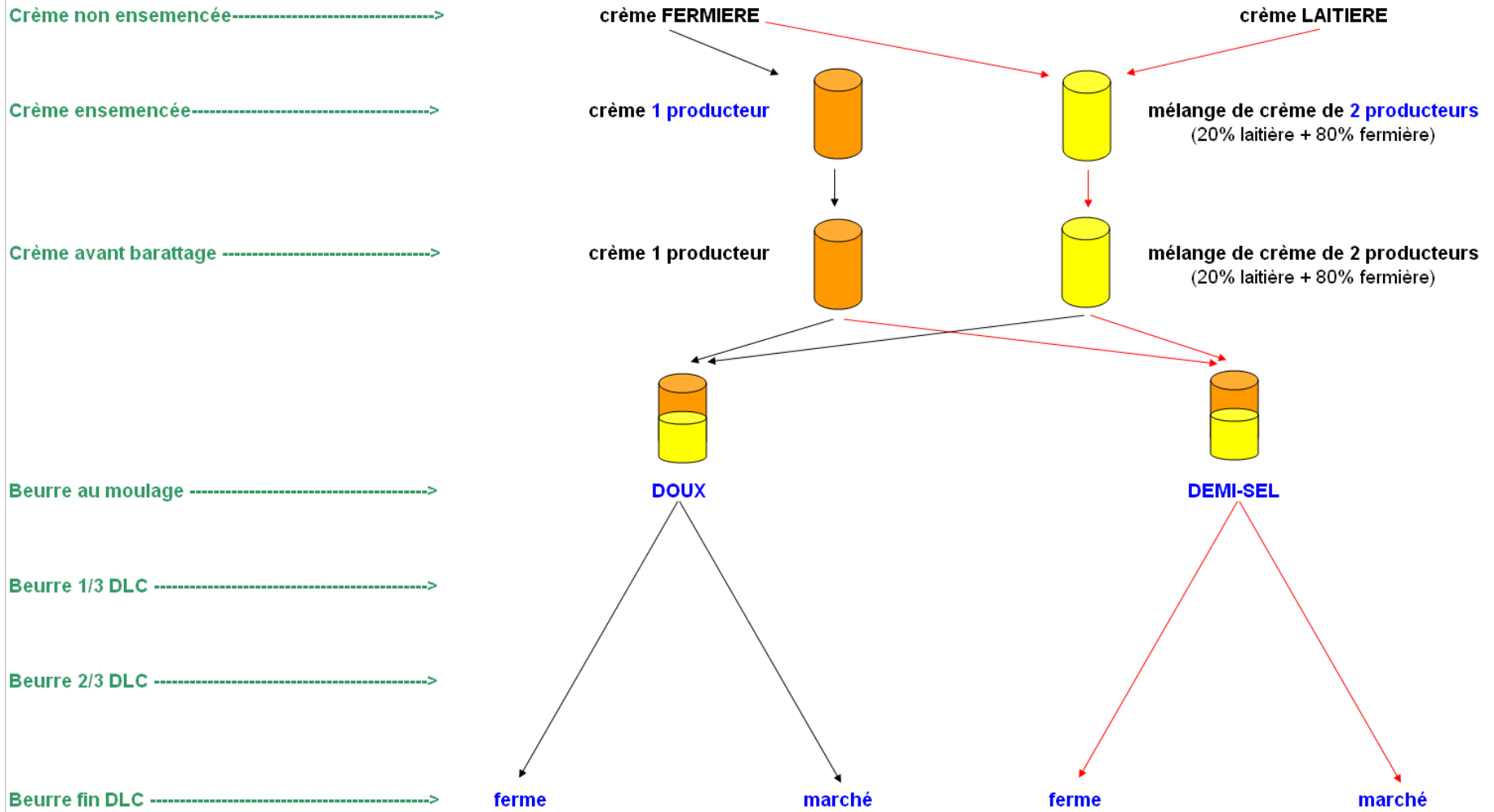
## Diagramme de fabrication

Exemple : description précise des caractéristiques de T°, pH, temps... de chacune des étapes



Les rendez-vous de la diversification – 27/01/16 - Gembloux

# Protocole expérimental (6/6)



Répété 3 fois (→ 3 lots) + 3 prélèvements par point

# Résultats des challenge-tests

# Résultats des challenge-tests

## Caractéristiques des crèmes crues de lait utilisées:

	pH	Acidité Dornic (°D)	Coliformes totaux (ufc/mL)	FMAR à 30°C (ufc/mL)	<i>Listeria monocytogenes</i>
Crème fermière	6.6	11.5	> 15000	> 30000	absence
Crème laitière	6.65	11	> 15000	> 30000	absence

→ Crèmes microbiologiquement chargées, mais absence de *Listeria monocytogenes*

**Ensemencement** : entre 500 et 1000 UFC/g de crème au stade début de maturation (<0,1% vol total)

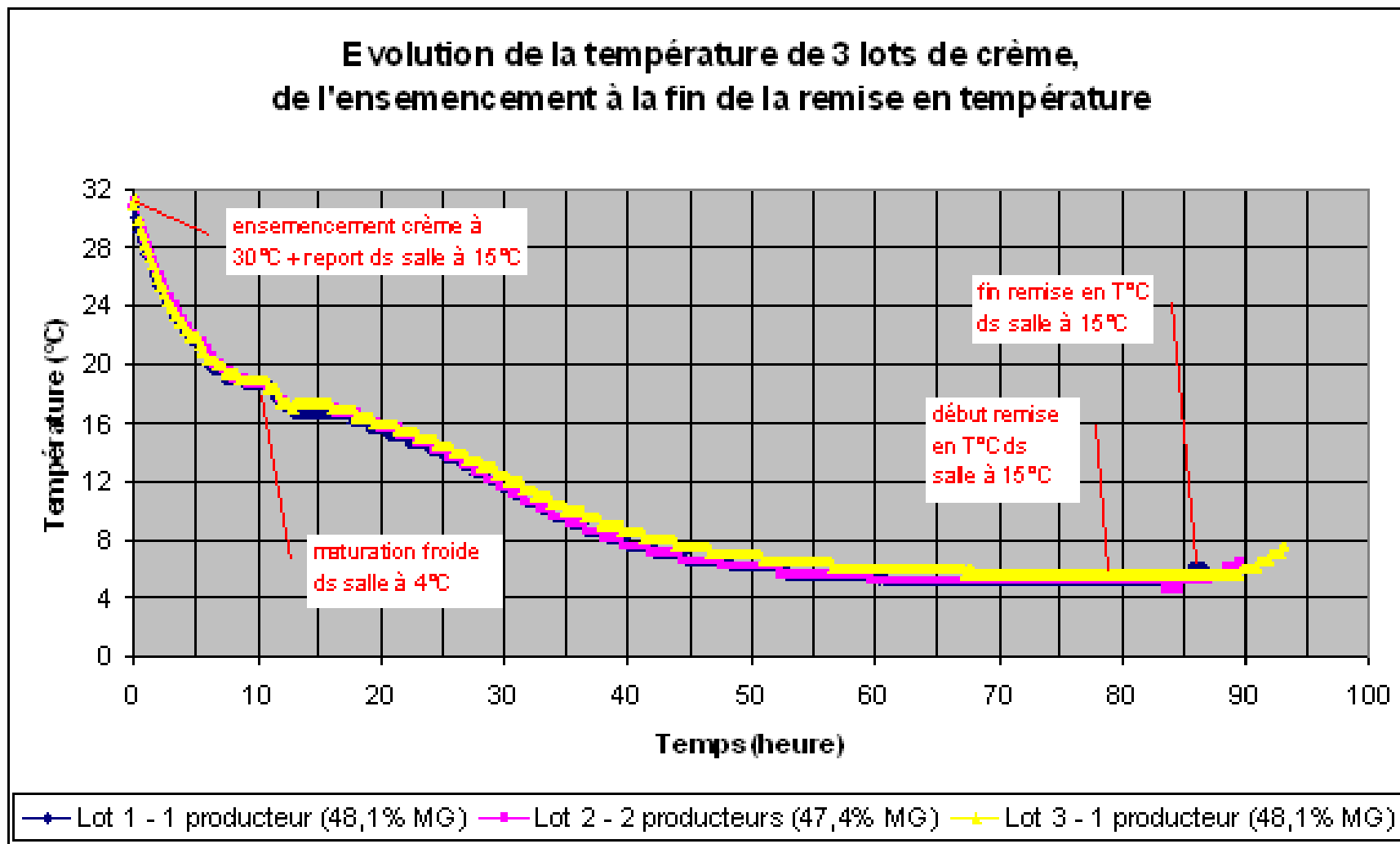
**Souches** : Cocktail de 2 = 1 souche isolée de beurre + 1 souche collection

*Les rendez-vous de la diversification – 27/01/16 - Gembloux*



# Résultats des challenge-tests

## Evolution de la température de la crème



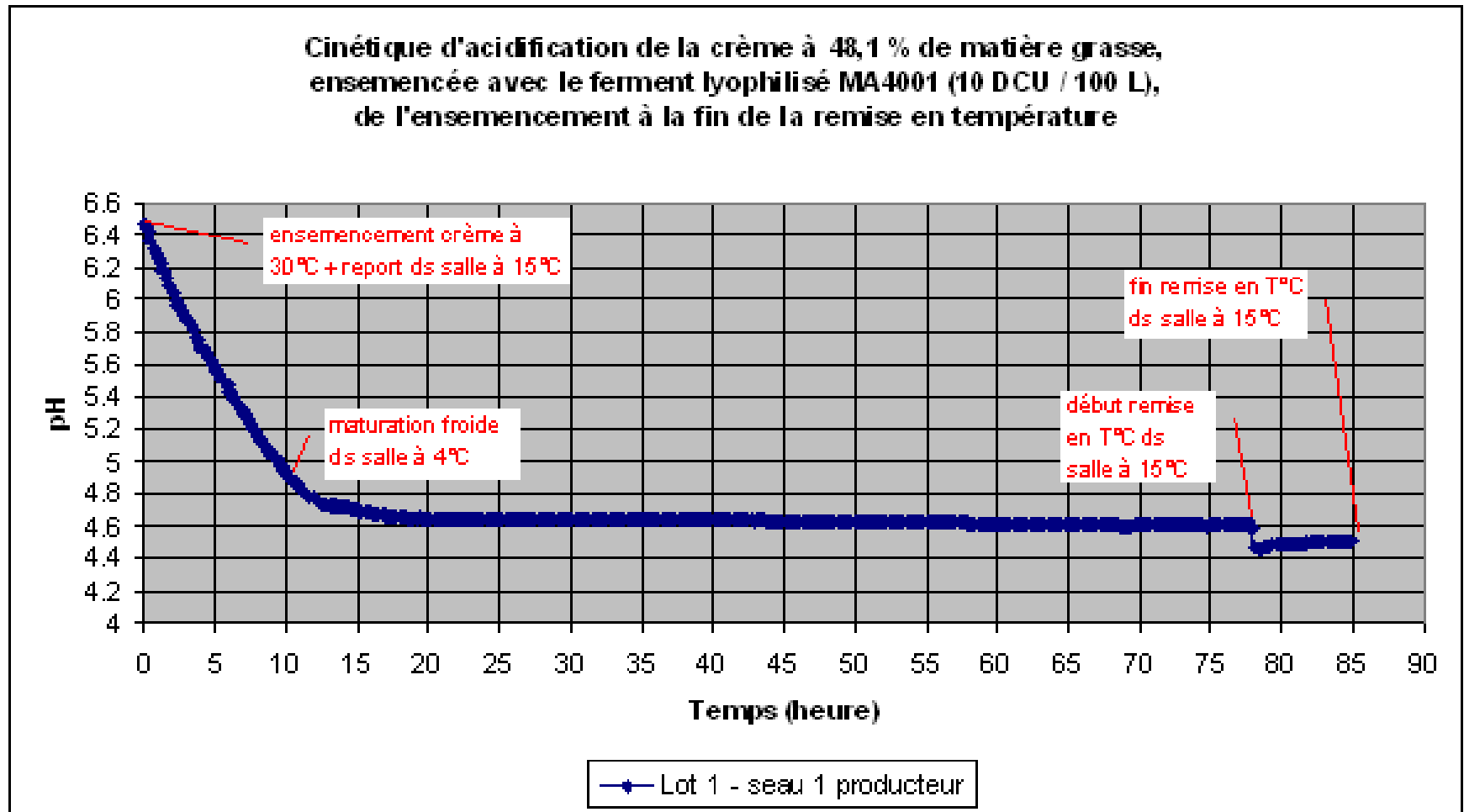
# Résultats des challenge-tests

## Résultats physico-chimiques au moulage

		Teneur en MG (%)	Teneur en eau (%)	Teneur en MS non grasse (%)	Teneur en sel (%)	Note répartition eau (/3)
<b>Beurre doux</b>	<b>Cible</b>	<b>(82 mini)</b>	<b>15.57</b>	<b>(2 maxi)</b>	<b>/</b>	<b>1.5</b>
	Lot 1	83.85 (0.22)	15.1 (0.2)	1.05 (0.03)	/	1 (0)
	Lot 2	83.55 (0.11)	15.42 (0.14)	1.03 (0.04)	/	1.5 (0.5)
	Lot 3	83.62 (0.12)	15.32 (0.1)	1.06 (0.03)	/	1.83 (0.29)
<b>Beurre demi-sel</b>	<b>Cible</b>	<b>(82 mini)</b>	<b>(16 maxi)</b>	<b>(2 maxi + sel)</b>	<b>1.9</b>	<b>1.8</b>
	Lot 1	81.95 (0.07)	15.29 (0.03)	2.76 (0.09)	1.9 (0.22)	2 (0)
	Lot 2	81.74 (0.04)	15.46 (0.07)	2.8 (0.05)	1.82 (0.08)	1.83 (0.29)
	Lot 3	81.95 (0.07)	15.4 (0.07)	2.65 (0.05)	1.83 (0.03)	1.5 (0)

# Résultats des challenge-tests

## Evolution du pH des crèmes



# Résultats des challenge-tests

## Résultats physico-chimique: conclusions

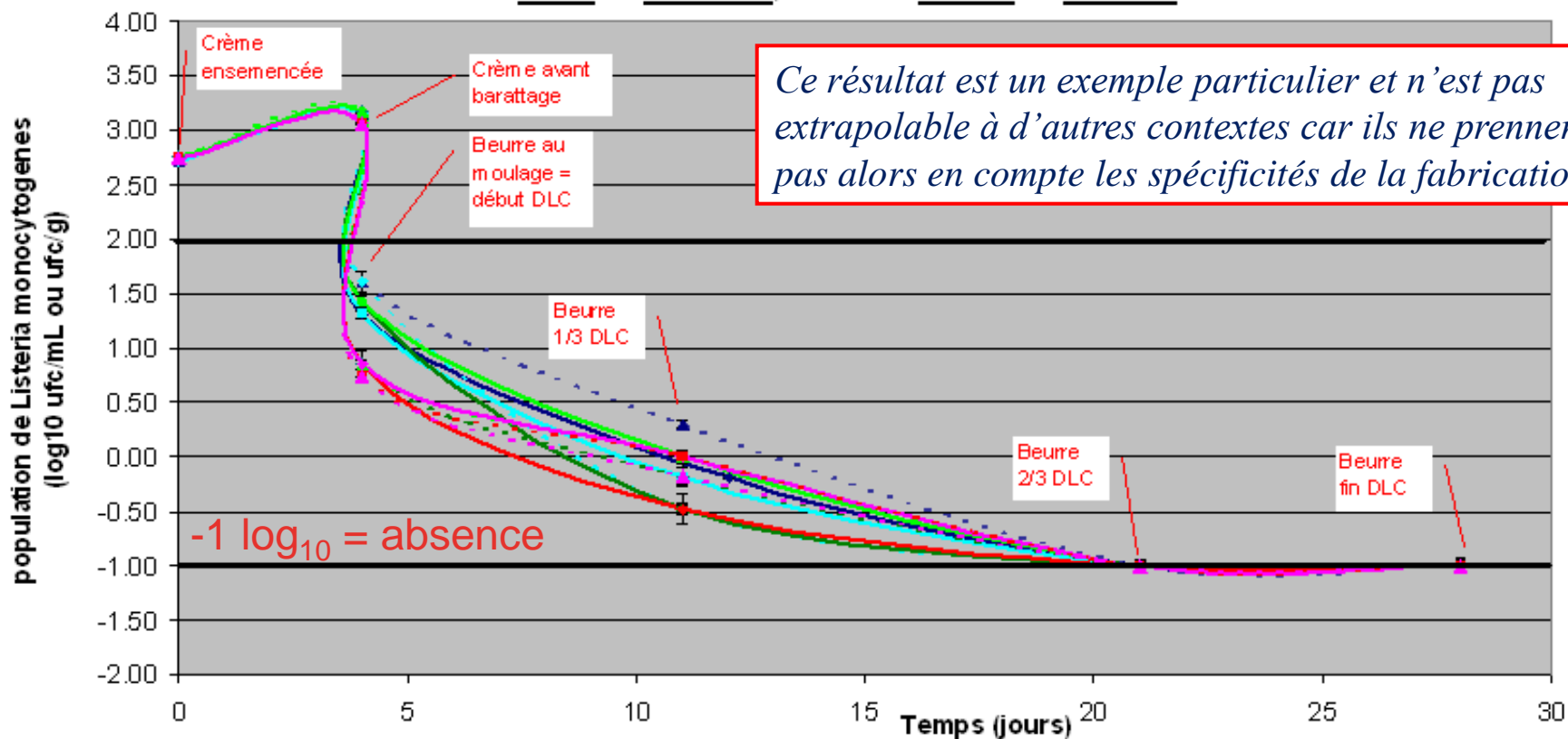
- la conduite de la fabrication est conforme aux objectifs fixés:
  - température de la crème en début et fin de maturation ✓
  - composition physico-chimiques des crèmes et des beurres ✓
  - pH des crèmes et des beurres ✓
- bonne acidification de la crème:  
passage de pH = 6.5 à pH = 4.6 en 17 heures ( $\Delta$  pH = 1.9)
- le beurre demi-sel est légèrement plus acide que le beurre doux ( $\Delta$  pH = 0.1 à 0.2):
  - beurre doux: pH de 4.50 à 4.8
  - beurre demi-sel: 4.30 à 4.65
- pas de différence nette d'évolution du pH entre les circuits ferme et marché

*Les rendez-vous de la diversification – 27/01/16 - Gembloux*

# Résultats des challenge-tests

## Evolution de *Listeria monocytogenes*

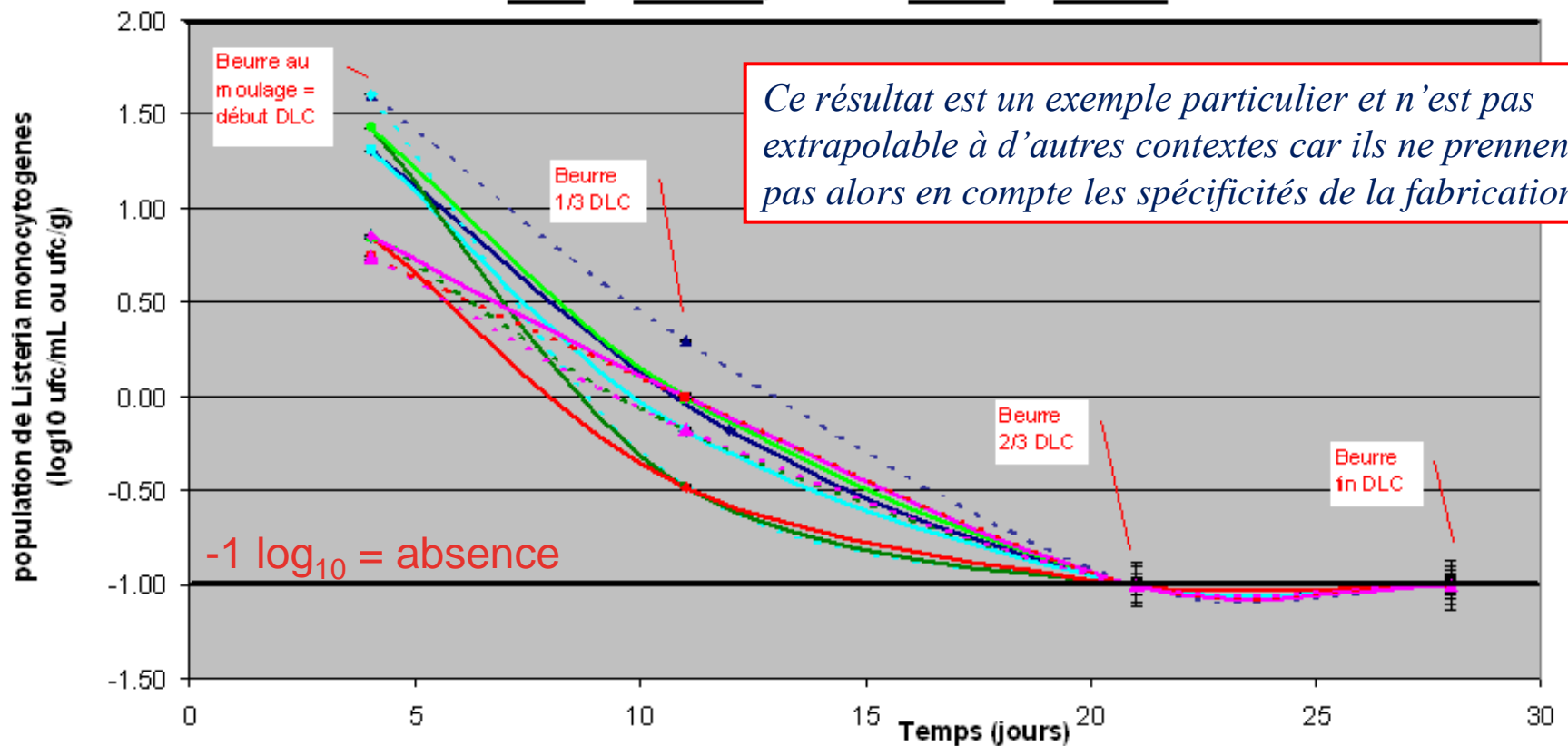
Evolution de la population de *Listeria monocytogenes* des 3 lots de beurre, de l'ensemencement de la crème à la fin de la DLC du beurre -  
Beurres doux et demi-sel, circuits Ferme et Marché



# Résultats des challenge-tests

## Evolution de *Listeria monocytogenes* (détail)

Evolution de la population de *Listeria monocytogenes* des 3 lots de beurre, du début à la fin de la DLC du beurre -  
Beurres doux et demi-sel, circuits Ferme et Marché



- |                      |                       |                          |                           |
|----------------------|-----------------------|--------------------------|---------------------------|
| ◆ Lot 1 - Doux Ferme | ◆ Lot 1 - Doux Marché | ◆ Lot 1 - Demi-sel Ferme | ◆ Lot 1 - Demi-sel Marché |
| ◆ Lot 2 - Doux Ferme | ◆ Lot 2 - Doux Marché | ◆ Lot 2 - Demi-sel Ferme | ◆ Lot 2 - Demi-sel Marché |
| ◆ Lot 3 - Doux Ferme | ◆ Lot 3 - Doux Marché | ◆ Lot 3 - Demi-sel Ferme | ◆ Lot 3 - Demi-sel Marché |

# Résultats des challenge-tests



ACTALIA  
PRODUITS LAITIERS

## Evolution de *Listeria monocytogenes*: conclusions

- la population de *L. monocytogenes* augmente légèrement durant la maturation de la crème. elle passe de  $2.7 \log_{10}$  (500 ufc/mL) à  $3.2 \log_{10}$  (1500 ufc/mL)
- le barattage + lavage + malaxage auraient une action physique épurative vis-à-vis de *Listeria monocytogenes*
- entre le début et la fin de la DLC la population de *Listeria monocytogenes* décroît jusqu'à être indétectable à partir du stade 2/3 DLC (21<sup>ème</sup> jour)
- pas de différence de décroissance entre les beurres doux et demi-sel et entre les circuits ferme et marché

**dans les conditions de transformation testées !**

# Conclusion challenge-tests

Validité du challenge –test et de ses résultats dépend :

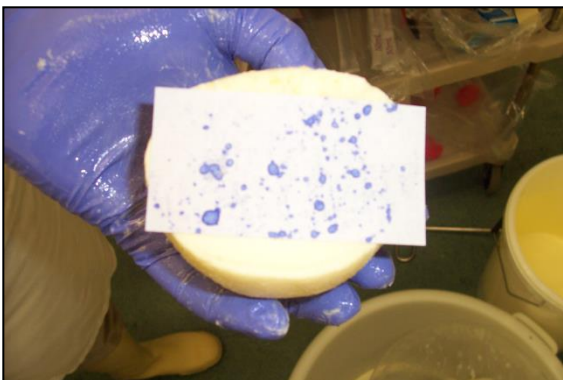
- de la connaissance du produit (fromage/beurre) que l'on veut transformer (il faut refaire une recette)
- tout en prenant en compte sa variabilité et celle des micro-organismes (le pathogène et les autres !)

Réseau de  
laboratoires  
reconnus

... pour conclure sur une expérimentation à partir de laquelle on ne peut pas extrapoler tel quel (→ mais via le taux de croissance max)

Un des outils utilisables pour positionner un produit laitier vis-à-vis du critère *L. monocytogenes* du régl. CE 2073/2005





# Merci de votre attention

[v.michel@actalia.eu](mailto:v.michel@actalia.eu)

