

---

## Analyse de la contamination d'*Escherichia coli* dans du beurre au lait cru

**Auteur** : Barbosa, Naomi

**Promoteur(s)** : Sindic, Marianne; Gérard, Amaury

**Faculté** : Gembloux Agro-Bio Tech (GxABT)

**Diplôme** : Master en bioingénieur : chimie et bioindustries, à finalité spécialisée

**Année académique** : 2020-2021

**URI/URL** : <http://hdl.handle.net/2268.2/12239>

---

### *Avertissement à l'attention des usagers :*

*Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.*

*Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.*

---

---

# Analyse de la contamination d'*Escherichia coli* dans du beurre au lait cru

---

Naomi Barbosa

Travail de fin d'études présenté en vue de l'obtention du diplôme de master  
bioingénieur en chimie et bioindustries

Année académique 2020-2021

Co-promoteurs : Marianne Sindic et Amaury Gérard

© Toute reproduction du présent document, par quelque procédé que ce soit, ne peut être réalisée qu'avec l'autorisation de l'auteur et de l'autorité académique de Gembloux Agro-Bio Tech.

Le présent document n'engage que son auteur.

---

# Analyse de la contamination d'*Escherichia coli* dans du beurre au lait cru

---

Naomi Barbosa

Travail de fin d'études présenté en vue de l'obtention du diplôme de master  
bioingénieur en chimie et bioindustries

Année académique 2020-2021

Co-promoteurs : Marianne Sindic et Amaury Gérard

## *Remerciements*

*Merci à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail de fin d'études.*

*Tout d'abord, Marianne Sindic et Amaury Gérard, les co-promoteurs de mon travail, pour m'avoir proposé d'étudier la problématique ainsi que pour leur encadrement et leurs nombreux conseils au cours de ces derniers mois ;*

*Ensuite, l'équipe de DiversiFerm, et particulièrement Sybille Di Tanna pour leur expertise pratique, la mise à disposition de sources d'information et leur aide précieuse dans la recherche des producteurs participant à l'étude ;*

*Également, Thierry Jadoul et Marc Ternier, du Comité du Lait, pour les visites sur le terrain et la mise en contact avec d'autres producteurs ;*

*Sans oublier, les producteurs des six exploitations qui m'ont accueillie et sans qui l'étude n'aurait pas pu avoir lieu.*

*Je tiens également à remercier tous mes proches, tout spécialement Alexandre et ma mère, pour leur soutien tout au long de ces années d'études.*

## Résumé

Suite à la demande de certains producteurs wallons de beurre au lait cru confrontés à un problème récurrent de contamination de leur produit en *E. coli*, DiversiFerm a souhaité étudier cette problématique pour mieux la comprendre et pouvoir apporter aux producteurs des conseils afin d'y remédier. L'étude de la contamination en *E. coli* du beurre au lait cru fait l'objet de ce travail.

*E. coli* est une bactérie dont la présence ou non est un indicateur d'hygiène du procédé de fabrication. Les normes énoncées dans le Règlement (CE) n°2073/2005 encadrent le taux de contamination dans les denrées alimentaires afin d'offrir une garantie d'hygiène aux consommateurs.

Le processus de fabrication du beurre compte plusieurs étapes : la traite, qui n'entre pas dans le cadre de ce travail, l'écémage, la maturation, le barattage, le lavage, le malaxage et le conditionnement.

L'étude repose sur le suivi de trois cycles de production de beurre au lait cru dans six fermes distinctes confrontées à la présence répétée d'*E. coli* dans le beurre produit. La méthode de travail pour cette étude a consisté à prélever des échantillons de surfaces (cinq points de prélèvement et trois répétitions) et des produits présents au cours du processus de fabrication du beurre : lait entier, crème, lait écrémé, crème maturée et beurre (cinq répétitions par produit). Ces prélèvements ont eu lieu à différentes étapes du processus de fabrication, à savoir avant et après l'écémage, après la maturation et après le barattage. La présence et les dénombrements de *E. coli* ont été réalisés à l'aide de Petrifilms. La contamination mesurée traduit la qualité du nettoyage de l'équipement en ce qui concerne les échantillons de surfaces, et de la qualité microbiologique pour cette bactérie dans les produits laitiers.

Selon la classification du règlement européen, sur les 18 lots de beurres échantillonnés et testés dans cette étude, un seul lot était de qualité satisfaisante, trois étaient acceptables et les 14 autres insatisfaisants, soit 78%.

Les résultats des prélèvements de surfaces montrent qu'un point critique de contamination est le tuyau d'arrivée du lait entier. Un deuxième point a pu être mis en évidence : l'orifice de passage du lait entier vers l'écémuse. La propreté de ces deux points est donc primordiale. Pour ce qui est de la contamination en *E. coli* dans les produits laitiers, l'étude a essayé d'identifier les facteurs pouvant l'influencer. Une corrélation pour le taux d'*E. coli* ou de coliformes a pu être établie par régression linéaire entre plusieurs couples de produits. Des tests statistiques ANOVA ont, eux, permis de révéler l'importance de la qualité microbiologique en *E. coli* du lait entier utilisé, la qualité étant liée dans cette étude au type d'équipement de traite utilisé (salle ou robot de traite) et à la propreté de cet équipement évaluée à la sortie du lactoduc. En effet, dans les exploitations de l'étude utilisant des robots, le lait entier était mis en attente d'être écrémé dans un réservoir tampon pendant plusieurs heures sans refroidissement, permettant ainsi le développement d'*E. coli*. Des tests GLM ont montré l'impact favorable de l'utilisation de ferments pour la maturation de la crème. Enfin, l'effet du mélange de différents lots de crème maturée pour un même barattage a également pu être mis en évidence dans les résultats.

Des pistes de solution ont été émises pour remédier à la contamination en *E. coli* chez les producteurs de l'étude. Celles-ci pourraient être appliquées à d'autres producteurs confrontés à une problématique semblable. Ces pistes consistent en l'amélioration du nettoyage de l'équipement, la diminution du temps d'attente du lait entier non refroidi avant l'écémage, et l'ensemencement de la crème avec des ferments lactiques pour la maturation.

Des études ultérieures pourront approfondir le sujet et vérifier les hypothèses émises.

Mots clés : Beurre, Lait cru, *Escherichia coli*, *E. coli*, Petrifilm, Hygiène alimentaire, Normes microbiologiques

## Abstract

Following the request of some Walloon raw milk butter producers faced with a recurrent problem of *E. coli* contamination of their product, DiversiFerm wished to study the issue to understand it better and to be able to provide producers with recommendations to remedy it. The study of *Escherichia coli* contamination in raw milk butter is the subject of this paper.

*E. coli* is a bacterium whose presence or absence is an indicator of hygiene for the manufacturing process. The standards set out in Regulation (EC) No 2073/2005 govern the level of contamination in food products in order to provide consumers with a guarantee of hygiene.

The butter manufacturing process includes several stages: milking, which is outside the scope of this work, skimming, maturation, churning, washing, kneading and packaging.

The study relies on the monitoring of three production cycles of raw milk butter on six different farms faced with the repeated presence of *E. coli* in the resulting butter. The method of work for this study consisted of taking samples of surfaces (five sampling points and three repetitions) and samples of the products present during the butter production process: whole milk, cream, skimmed milk, ripened cream and butter (five repetitions per product). These samples were taken at different stages of the manufacturing process, i.e. before and after skimming, after maturation and after churning. The *E. coli* in the samples were cultured on Petrifilm on the same day so that they could be enumerated. The level of *E. coli* measured on the Petrifilms reflects the quality of the cleaning of the equipment for the surface samples, and the microbiological quality for this bacterium in the dairy products. Based on the classification of the European Regulation, out of 18 batches of butter sampled and tested in this study, only one batch was of satisfactory quality, three were acceptable and the other 14 unsatisfactory, i.e. 78%.

The results of the surface sampling show that a critical point of contamination is the whole milk supply pipe. A second point was found to be the whole milk inlet to the skimmer. The cleanliness of these two points is therefore of paramount importance. As for *E. coli* contamination in dairy products, the study tried to identify possible contributing factors. A correlation for *E. coli* or coliform levels could be established by linear regression between several product pairs. Statistical ANOVA tests revealed the importance of the microbiological quality in *E. coli* of the whole milk used, the quality being linked in this study to the type of milking equipment used (parlour or milking robot) and to the cleanliness of this equipment rated at the outlet of the milk duct.

Indeed, on those farms participating in the study which use robots, the whole milk was left to stand in the buffer tank for several hours without cooling before skimming, thus allowing the development of *E. coli*. GLM tests showed the favourable impact of using ferments for cream maturation. Finally, the effect of mixing different batches of ripened cream for the same churning could also be seen in the results.

Suggestions for solutions to the *E. coli* contamination of the producers in the study were made. These solutions may be applicable to other producers facing a similar problem. The solutions include improving equipment cleaning, reducing the waiting time of uncooled whole milk before skimming, and inoculating the cream with lactic ferments for maturation.

Additional studies may further investigate the subject and verify the hypotheses.

Keywords: Butter, Raw milk, *Escherichia coli*, *E. coli*, Petrifilm, Food safety, Microbiological standards

## Table des matières

I.	Introduction.....	4
II.	Contexte et état de l'art .....	5
	A. Le beurre.....	5
	1. Définition.....	5
	2. Structure microscopique du beurre.....	5
	3. Étapes de production du beurre .....	7
	4. La production de beurre au lait cru en Wallonie .....	10
	5. Risques microbiologiques liés à la consommation de beurre au lait cru.....	11
	B. <i>Escherichia coli</i> .....	12
	C. <i>E. coli</i> dans le beurre.....	13
III.	Objectifs.....	14
IV.	Matériels et méthode.....	14
	A. Sélections des fermes .....	14
	B. Échantillonnage.....	15
	1. Surfaces.....	15
	2. Produits laitiers .....	16
	C. Choix du matériel d'analyse.....	16
	D. Méthode .....	17
	1. Préparation des échantillons de produits laitiers .....	17
	2. Préparation des échantillons de surfaces .....	17
	3. Incubation et lecture des Petrifilms.....	17
	4. Traitement des données .....	18
V.	Résultats et discussion.....	19
	A. Analyse des prélèvements de surfaces.....	20
	1. Analyse des situations ferme par ferme : .....	21
	B. Analyse des produits laitiers .....	22
	1. Influence de la qualité des produits laitiers au cours du processus de fabrication du beurre.....	22
	2. Facteurs influençant la qualité du lait entier .....	23
	3. Influence des ferments lors de la maturation.....	25
	4. Impact du mélange de crème maturée pour le barattage.....	26
VI.	Pistes d'amélioration pour les producteurs .....	28
	A. Nettoyage .....	28
	B. Diminution du temps d'attente avant l'écémage .....	28
	C. Utilisation de ferments lactiques.....	29

D. Exemple pratique dans une exploitation.....	29
VII. Conclusion et perspectives.....	30
VIII. Bibliographie.....	32
IX. Annexes .....	36

## Liste des figures

Figure 1 : principaux acides gras de la matière grasse laitière et la température (°C) de fusion <sup>9</sup> . .....	5
Figure 2 : schéma de production : beurre, lait écrémé et babeurre <sup>11</sup> .....	6
Figure 3 : origine et vecteurs de contamination en <i>E coli</i> à explorer, de la plus fréquente à la moins fréquente <sup>21</sup> .....	13
Figure 4 : prélèvement de surface pour l'écrémage dans la ferme D. ....	15
Figure 5 : prélèvement de surface pour l'écrémage dans la ferme A. ....	15
Figure 6 : photo du Petrifilm de l'échantillon de crème maturée 69. ....	18
Figure 7 : répartition des beurres analysés en fonction des normes pour <i>E. Coli</i> . ....	19
Figure 8 : photo de l'écrémeuse de la ferme B avec les différents points de prélèvement. ....	21
Figure 9 : diagramme des valeurs moyennes en <i>E. Coli</i> (log UFC/mL) des fermes. ....	23
Figure 10 : évolution du taux de <i>E. Coli</i> dans la crème maturée et le beurre pour chaque ferme et chaque visite .....	26

## Liste des tableaux

Tableau 1 : critères belges de sécurité pour le beurre au lait cru. <sup>20</sup> .....	12
Tableau 2 : critère d'hygiène en <i>E. Coli</i> dans du beurre au lait cru <sup>11</sup> .....	13
Tableau 3 : caractéristiques des fermes de l'étude. ....	14
Tableau 4 : points de prélèvement des surfaces.....	15
Tableau 5 : dénombrements en <i>E. Coli</i> et en coliformes totaux pour les prélèvements de surfaces.....	20
Tableau 6 : détails des prélèvements de surfaces "passage à l'écrémeuse". ....	21
Tableau 7 : détermination de l'association entre la qualité microbiologique du lait entier ou de la crème et celle du beurre.....	22
Tableau 8 : impact des fermes sur le taux en <i>E. Coli</i> dans le lait cru - groupement par la méthode de la plus petite différence significative (LSD) de Fisher et un niveau de confiance de 95 % .....	24
Tableau 9 : impact de l'équipement de traite sur le taux en <i>E. Coli</i> dans le lait cru - groupement par la méthode de la plus petite différence significative (LSD) de Fisher et un niveau de confiance de 95 %.....	24
Tableau 10 : impact de la contamination de l'arrivée de lait sur le taux en <i>E. Coli</i> dans le lait cru - groupement par la méthode de la plus petite différence significative (LSD) de Fisher et un niveau de confiance de 95 % .	25
Tableau 11 : effet des ferments sur le taux d' <i>E. coli</i> dans la crème maturée en fonction de la charge initiale en <i>E. Coli</i> dans le lait entier - groupement par la méthode de LSD de Fisher et un niveau de confiance de 95 % .....	25
Tableau 12 : comparaison des ferments utilisés dans cette étude - groupement par la méthode de LSD de Fisher et un niveau de confiance de 95 %.....	26
Tableau 13 : résultats détaillés de l'analyse de la crème maturée lors de la première visite à la ferme F.....	27
Tableau 14 : résultats détaillés de l'analyse de la crème maturée lors des visites 2 et 3 à la ferme A. ....	27

## I. Introduction

Le contexte actuel dans le secteur agricole amène de plus en plus d'agriculteurs à diversifier leur activité et à valoriser leur production directement à partir de leur exploitation ou, au minimum, en circuit court. Cette évolution trouve sa source notamment dans le désir des producteurs de réduire le nombre d'intermédiaires entre eux et les consommateurs afin de s'assurer un meilleur revenu et une reconnaissance de leur travail par l'interaction avec les consommateurs, mais aussi dans le désir des consommateurs de retourner vers des produits locaux et de qualité en s'éloignant des produits industriels.

La production et la commercialisation de denrées alimentaires sont soumises à une réglementation sanitaire belge et européenne très stricte, dans le but de garantir la sécurité de la chaîne alimentaire. Cette réglementation, et les normes qu'elle impose s'appliquent donc aussi aux productions artisanales à la ferme contrôlées par l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire (AFSCA).

Le travail présenté ici s'inscrit dans ce cadre. Il a été réalisé sous la direction de Madame la Professeure Marianne Sindic et de son équipe du Laboratoire de Qualité et Sécurité des Produits agroalimentaires (QSPA), et étudie la contamination du beurre au lait cru par la bactérie *Escherichia coli*. Il a été effectué en collaboration avec DiversiFerm, projet financé par la Région Wallonne, et qui a *pour but d'accompagner les agriculteurs-transformateurs et les artisans de l'agro-alimentaire dans leur production de denrées alimentaires artisanales et la commercialisation via les circuits courts*<sup>1</sup>. L'équipe de DiversiFerm désirait en effet étudier cette problématique en vue d'offrir des pistes de solutions aux producteurs qui avaient fait appel à ses services et connaissaient une contamination en *E. coli* dans leur production de beurre.

Les résultats de ce travail devraient également pouvoir être appliqués à l'avenir afin de conseiller d'autres producteurs confrontés à la même problématique ou voulant se diversifier en démarrant une activité de transformation de produits laitiers à base de lait cru.

## II. Contexte et état de l'art

### A. Le beurre

#### 1. Définition

Le beurre est un aliment apparu il y a plusieurs milliers d'années<sup>2</sup>. Le plus ancien document connu mentionnant la fabrication de beurre a été retrouvé en Inde et date de 1500 à 2000 av. J.-C<sup>3</sup>. Le beurre est consommé et produit partout dans le monde.

Le beurre est défini dans le Codex Alimentarius<sup>4</sup> comme « un produit gras dérivé exclusivement du lait et/ou de produits obtenus à partir du lait, principalement sous forme d'une émulsion du type eau-dans-huile ». Sa composition est également normalisée dans le Codex Alimentarius et est de minimum 80 % m/m en matière grasse laitière, de maximum 16 % m/m en eau et de maximum 2 % m/m en extrait sec non gras. En Belgique, l'Arrêté royal du 6 mai 1988<sup>5</sup> mentionne que le beurre ne peut pas contenir plus de 1,5 % m/m de chlorure de sodium (sel). Il faut en moyenne 22 L de lait entier pour produire 1 kg de beurre<sup>6</sup>.

Le beurre est fabriqué à partir de lait qui se définit, suivant la définition du Codex Alimentarius<sup>7</sup>, comme « la sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou de plusieurs traites, sans rien y ajouter ou en soustraire, destiné à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur ». Le lait cru est « un lait qui n'a pas subi de traitement thermique à plus de 40°C ou tout autre traitement ayant un effet équivalent » toujours selon le Codex Alimentarius<sup>8</sup>, c'est-à-dire un lait dont la flore microbienne n'a pas été modifiée.

#### 2. Structure microscopique du beurre

Dans le lait ou la crème, la matière grasse est présente sous forme d'une émulsion stable de type huile dans phase aqueuse, correspondant au lait écrémé. En moyenne, le lait entier contient entre 35 et 45 g/L de matière grasse<sup>9</sup>.

La stabilité de l'émulsion est garantie par la membrane des globules gras. Ceux-ci sont des particules de matière grasse entourées d'une pseudomembrane, constituée de phospholipides et de protéines, ayant un diamètre moyen de 3 à 4  $\mu\text{m}$ <sup>9</sup>. La taille des globules gras varie au cours des saisons essentiellement à cause de l'alimentation, mais la taille est peu liée à la race, au stade et au rang de lactation<sup>10</sup>. Ce paramètre influence le temps de barattage.

La matière grasse du beurre est constituée dans sa quasi-totalité par les triglycérides (près de 98%)<sup>9</sup>. Pour rappel, les triglycérides sont composés d'une base de glycérol dont chacun des trois atomes d'oxygène est lié à une chaîne d'acide gras. Ces liaisons forment des triesters. Les chaînes d'acides gras liées au glycérol peuvent être variables. La matière grasse des produits laitiers compte 10 acides gras majeurs (Figure 1), dont les acides gras saturés de l'acide butyrique au stéarique et les acides gras insaturés oléiques et linoléiques.

Nombre de carbone	Nomenclature de l'acide gras	Température de fusion	Nombre de carbone	Nomenclature de l'acide gras	Température de fusion
C4:0	acide butyrique	- 8°C	C14:0	acide myristique	+ 54°C
C6:0	acide caproïque	- 2°C	C16:0	acide palmitique	+ 62°C
C8:0	acide caprylique	+ 16°C	C18:0	acide stéarique	+ 70°C
C10:0	acide caprique	+ 30°C	C18:1	acide oléique	+ 14°C
C12:0	acide laurique	+ 40°C	C18:2	acide linoléique	+ 12°C

Figure 1 : Principaux acides gras de la matière grasse laitière et la température (°C) de fusion<sup>9</sup>.

Les paramètres physiques du beurre, et en particulier sa température de fusion, sont influencés par sa composition en acides gras. Avec une alimentation classique des vaches laitières (foin, ensilage, etc.), l'acide palmitique est fort présent dans le beurre, ce qui lui confère sa solidité à température ambiante. Cependant, les vaches tendent maintenant à être nourries avec des aliments contenant des acides gras insaturés, tels que l'herbe et les céréales, afin de synthétiser des acides gras à 18 carbones (saturés et insaturés). Des aliments riches en oméga 3, comme le lin, sont ajoutés aux rations pour produire du beurre avec un point de fusion plus bas, donc plus mou. Étant donné que l'alimentation des vaches varie avec les saisons, la texture du beurre n'est pas constante au cours du temps<sup>9</sup>.

La matière grasse des produits laitiers contient d'autres molécules en faible proportion (moins de 1 %) qui ont diverses propriétés. La libération d'acides gras par des lipases peut donner des arômes au beurre. Ces arômes peuvent être soit appréciés par le consommateur soit désagréables (goût de rance). Les phospholipides constituent la membrane des globules gras et assurent la stabilité de ceux-ci avant l'inversion de phase. Les molécules insaponifiables, comme le carotène qui donne la couleur du beurre, le cholestérol et les vitamines, sont liposolubles et donc présentes dans le gras.

Dans le lait et la crème, la matière grasse est stable grâce à une combinaison de plusieurs facteurs : la bipolarité de la surface, la présence d'un constituant hydrophile en périphérie et un excès de charges négatives dans la membrane des globules gras. Pendant le processus de maturation de la crème, des phénomènes réversibles ou non vont déstabiliser ces facteurs et provoquer l'agrégation des globules gras. Cette étape va faciliter le barattage qui permet d'obtenir une phase grasse continue dans laquelle des gouttelettes aqueuses sont dispersées<sup>9</sup>.

### 3. Étapes de production du beurre

Le processus de production du beurre est repris en figure 2<sup>11</sup>. Tous les producteurs ne réalisent pas les étapes de pasteurisation, d'ensemencement et d'ajout de sel. C'est notamment le cas des beurres étudiés dans ce travail, qui étaient tous produits à base de lait cru.

Les étapes en italique ne se font pas chez tous les transformateurs

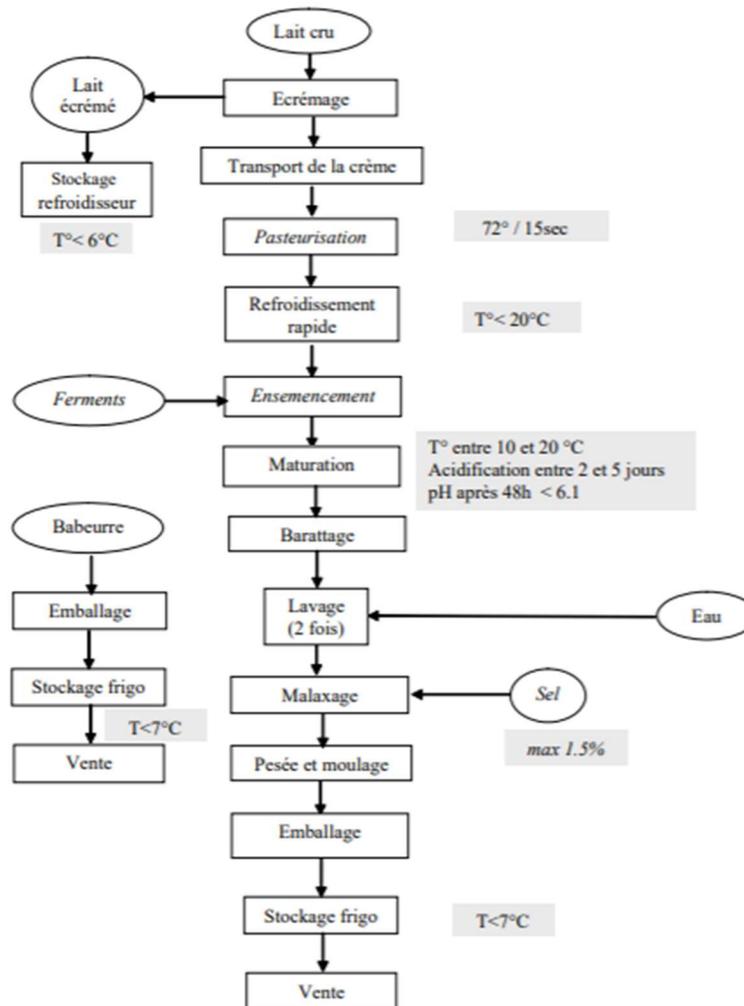


Figure 2 : Schéma de production : Beurre, lait écrémé et babeurre<sup>11</sup>

#### a) L'écémage

La première étape est l'écémage, qui consiste à isoler la matière grasse du lait. Deux produits sont obtenus : le lait écrémé et la crème qui concentre la matière grasse (environ 35 % m/m). La séparation des produits est due à une différence de masse volumique entre la solution aqueuse (1,036) et la solution concentrant les globules gras (0,930)<sup>12</sup>.

Il existe deux méthodes d'écémage. La première est l'écémage spontané et consiste à laisser une fine couche de lait dans un récipient large pendant 12 à 24 h à des températures entre 8 et 14 °C. La crème remonte et peut être récupérée. Cette méthode n'est plus très répandue.

La seconde méthode, la plus fréquente, consiste en une centrifugation du lait entier. La rotation des assiettes de l'écémuse génère une force centrifuge qui permet de séparer les globules gras, qui restent au centre de l'écémuse, du lait écrémé, qui est projeté sur le pourtour du bol. Il est possible de moduler la teneur en matière grasse de la crème en fonction de la vitesse de rotation des assiettes

notamment<sup>13</sup>. En effet, plus la vitesse de rotation est élevée, plus la teneur en matière grasse de la crème sera élevée. C'est pourquoi le lait n'est généralement pas refroidi avant l'écémage. Des « boues » d'écémage peuvent se former sur les parois. Ces boues contiennent les impuretés lourdes du lait, permettant donc une épuration du lait. Lors de l'utilisation de petites écémages pour des quantités de lait trop importantes, l'excès de boues repasse dans le lait écémé ou la crème. Ceci peut alors provoquer des contaminations biologiques<sup>14</sup>. Dans cette méthode, l'écémage se fait idéalement à des températures comprises entre 30 et 40 °C.

#### b) L'ensemencement

Cette étape consiste en une inoculation de bactéries lactiques dans la crème. Les ferments sont ajoutés, dans la majorité des cas, sous forme lyophilisée ou liquide. Ces bactéries favorisent la maturation biologique. Toutefois, cette étape n'est pas obligatoire lors de la fabrication de beurre au lait cru. En effet, la flore lactique de la crème est toujours présente, car elle n'a pas été détruite par la pasteurisation. Cependant, l'ensemencement de la crème avec des ferments permettrait de limiter le développement de bactéries non désirables comme *E. coli*<sup>12</sup> ainsi que des bactéries pathogènes comme *Listeria monocytogenes*<sup>15</sup>.

#### c) La maturation

L'objectif de la maturation est de modifier les caractéristiques physicochimiques de la crème afin de faciliter son barattage. La maturation peut être physique ou biologique.

- La maturation physique :

La maturation physique repose sur la cristallisation (partielle) de la matière grasse sous l'effet de la température et du temps. Dans la plupart des cas, la crème est refroidie à des températures inférieures à 10 °C. La maturation physique permet de jouer sur la consistance, et plus spécialement la dureté du beurre, en fonction des cristaux formés (un beurre contenant beaucoup de glycérides à haut point de fusion sera plus dur et cassant).

- La maturation biologique :

La maturation biologique a pour but d'acidifier la crème par la flore lactique. Celle-ci est constituée de la flore naturellement présente dans la crème ainsi que des ferments ajoutés en cas d'ensemencement. Les bactéries transforment le lactose en acide lactique, provoquant l'abaissement du pH.

La température nécessaire à la maturation biologique doit être comprise entre 10 et 20 °C, car, en dessous de ces valeurs, les bactéries lactiques ne se développent pas (ou mal). Le temps de maturation est assez variable. La FAO<sup>12</sup> préconise une durée de 6 à 24 h alors que l'AFSCA mentionne, dans son guide d'autocontrôle G-034<sup>11</sup>, une période de 2 à 5 jours.

L'abaissement du pH de la crème permet de faciliter le barattage, d'inhiber la croissance de certaines bactéries et l'activité d'enzymes de dégradation, ainsi que d'activer le développement de bactéries aromatisantes qui sont pH-dépendantes. Ces dernières produisent des molécules diacétyles qui peuvent être retransformées en molécules non aromatiques si la maturation est trop longue<sup>14</sup>. Il est conseillé d'atteindre un pH de crème maturée compris entre 4,7 et 4,8 afin d'obtenir les meilleures qualités aromatiques. La diminution du pH en dessous de 4,5 permet, elle, d'inhiber la croissance de *Listeria monocytogenes*, entre autres.

Il est possible de fabriquer du beurre à partir de crème douce, dont le pH est supérieur à 5 et majoritairement compris entre 5,5 et 6, par cristallisation à des températures basses (4 à 6 °C). Le beurre réalisé avec ces crèmes douces est plus sujet aux altérations microbiennes et à la lipolyse<sup>14</sup>.

#### d) *Le barattage*

Le barattage est l'étape d'inversion de phase et d'élimination de la majorité de la phase non grasse, le babeurre, sous l'effet d'une action mécanique (agitation). En effet, la crème comme le lait sont des émulsions de type graisse dans eau, à l'inverse du beurre (émulsion de type eau dans graisse). Il existe deux procédés de barattage : le barattage continu et le barattage discontinu. Dans ce travail, il sera uniquement question de barattage discontinu.

Cette étape s'effectue dans une baratte dont la forme et le revêtement peuvent être variés (bois ou inox). Dans la majorité des cas, la crème est agitée grâce à des hélices. L'axe de rotation des hélices est également variable (horizontal ou vertical). Plusieurs paramètres influencent le barattage ainsi que les caractéristiques du futur beurre. Un taux élevé de matière grasse dans la crème facilite le barattage. L'agitation de la crème dépend de la vitesse de rotation, de la forme de la baratte, mais également de son taux de remplissage, qui permet d'exercer une compression mécanique supplémentaire sur la crème. Le taux de remplissage conseillé est d'environ 40 %. Pour les barattes à hélices tournantes, il est cependant possible de monter jusqu'à plus de 50 % de remplissage. Le barattage est plus aisé avec une crème acide. L'acidité modifie la couche protéique des globules gras, facilitant ainsi l'agglomération. Le dernier paramètre est la température de la crème, qui doit être comprise entre 8 et 13 °C. La température peut être réglée avant le barattage afin d'éviter une trop grande perte d'eau si la crème est trop froide) ou une perte de matière grasse (si la crème est trop chaude).

La baratte est arrêtée lorsque des grains de beurres sont présents et que le babeurre est séparé du beurre. Le babeurre est alors évacué. Celui-ci peut être valorisé (fabrication de fromage, consommation directe ...).

#### e) *Le lavage*

Cette étape a pour but de laver les grains de beurre afin d'éliminer le babeurre qui reste entre les grains. Les grains de beurre doivent être suffisamment petits pour être lavés correctement.

Le lavage permet de réduire la contamination en microorganismes, par l'élimination des substances nécessaires à leur croissance (lactose et protéines). La conservation du beurre en sera favorisée. L'eau utilisée pour le lavage doit être potable, comme définie par l'arrêté royal du 14 janvier 2002<sup>16</sup>.

La température de l'eau doit être proche de celle du beurre, c'est-à-dire tempérée, mais lorsqu'il fait chaud, il est possible de laver le beurre à l'eau froide afin de le raffermir et donc d'obtenir la consistance désirée. L'eau de lavage est évacuée de la baratte après chaque cycle.

L'AFSCA<sup>11</sup> préconise de réaliser deux cycles de lavage (voir figure 2), mais il est parfois nécessaire d'augmenter le nombre de cycles pour obtenir le beurre voulu (quantité de lactoses et protéines, texture ...).

#### f) *Le malaxage*

L'étape finale de la fabrication du beurre est le malaxage. Elle consiste à pétrir le beurre afin d'obtenir un ensemble homogène dans lequel l'eau est répartie sous forme de fines gouttelettes.

C'est au cours du malaxage qu'a lieu le salage. L'ajout de sel permet de conserver le beurre. Le sel étant soluble dans l'eau, il va former une saumure. Pour que le développement des micro-organismes soit presque totalement inhibé<sup>12</sup>, il faudrait un pourcentage de 2,5 % de sel dans le beurre. Cependant,

en Belgique, l'Arrêté Royal du 6 mai 1988<sup>5</sup> stipule que le beurre ne peut pas contenir plus de 1,5 % m/m de sel.

*g) Le conditionnement*

Le beurre est pesé et mis en forme. Le beurre peut être mis dans un moule ou moulé avec des palettes. Le plus souvent, les outils de mise en forme sont en bois et le beurre est emballé dans du papier dit « ingraissable ».

Le beurre doit être conservé au frigo à une température inférieure à 7 °C avant d'être vendu<sup>11</sup>.

4. La production de beurre au lait cru en Wallonie

En 2016, de DiversiFerm a mené une enquête<sup>6</sup> auprès de producteurs wallons de beurre au lait cru. Parmi 211 producteurs répertoriés par les bases des données de l'APAQ-W et, 147 ont participé à l'enquête, soit un taux de participation de 70 %. L'étude s'est intéressée tant à la partie production laitière qu'à la partie transformation du lait en beurre.

Pour la partie production laitière, l'étude a mis en évidence plusieurs tendances. La quantité de beurre produite hebdomadairement était liée à la taille du troupeau. Plus de 90 % des producteurs travaient deux fois par jour. Une majorité travaillait en salle de traite ou via un lactoduc (respectivement 66 et 21,1 %) et seulement 4 % utilisaient un robot. Cependant, il est probable que les chiffres concernant l'équipement de traite aient évolué en 4 ans, car de plus en plus de producteurs se tournent vers des robots de traite. La majorité des vaches étaient alimentées avec de l'ensilage lorsqu'elles étaient en étable et mises à l'herbe lors des beaux jours.

Pour la fabrication de beurre, les producteurs suivaient toutes les étapes clés décrites précédemment (écrémage, maturation avec ou sans ferments, barattage, lavage, malaxage avec ajout ou non de sel et conditionnement). Cependant, la manière dont était réalisée chacune de ces étapes est variable, donnant une grande diversité de processus de fabrication.

L'écémage se déroulait presque toujours (93 %) au moment de la traite, sauf pour la traite au moyen des robots. Dans ce cas, le lait est mis en attente dans un réservoir tampon sans refroidissement avant d'être écémé. La moitié des producteurs interrogés écémaient au moins quatre fois par semaine, permettant de mélanger des crèmes de traites différentes pour fabriquer le beurre. En général, il se passait au minimum deux jours entre écémage et barattage pour les crèmes les plus âgées.

Lors de cette étude, 68 % des producteurs interrogés réalisaient la maturation sans ensemencement. Parmi ceux qui utilisaient des ferments, seul 1 % ensemençaient la crème avec une crème maturée plus ancienne (ferment naturel). Les autres utilisaient des mélanges commerciaux de bactéries mésophiles. La maturation est influencée par la durée, la température et la combinaison de ces deux paramètres. L'étude a montré l'existence de six combinaisons de lieu de stockage (frigo et/ou atelier), faisant le lien avec la température. La température de maturation au frigo et en atelier variait de 2 à 7 °C et de 8 à 23 °C, respectivement. Un quart des producteurs réalisaient une maturation uniquement à température de réfrigération, et plus d'un quart maturaient les crèmes à température ambiante. 25 % réalisaient la maturation dans l'atelier avant de stocker les crèmes au frigo. La combinaison inverse n'était réalisée que par 13,6 % des producteurs. La combinaison de trois paliers de températures était plus rare. Lorsqu'il y a plusieurs paliers de température, le dernier lieu correspondait à l'endroit où la crème était stockée le plus longtemps.

Pour le barattage, la majorité des producteurs remplissaient la baratte à plus de la moitié de sa capacité maximale, et 41 % la remplissent au-delà des trois quarts. Dans l'enquête menée par DiversiFerm en 2014, 75 % des barattes avaient un axe de rotation vertical. Les barattes étaient en

majorité en bois plutôt qu'en inox (66 % pour 34 %), mais ces chiffres sont susceptibles d'avoir évolué. Les producteurs ont de plus en plus de difficultés à se procurer des barattes en bois. En effet, leur production a fortement diminué et les barattes disponibles en occasion sont relativement anciennes<sup>17</sup>[20] (plus de 25 ans en 2014), forçant le passage à l'inox.

De manière générale, le beurre était lavé à l'eau courante. Dans certains cas, l'eau provenait d'un puits. La moitié des producteurs lavaient trois fois le beurre, et presque tous les producteurs interrogés n'excédaient jamais quatre lavages. La majorité utilisait un volume d'eau plus faible que le volume de crème pour le lavage.

Presque tous les producteurs malaxaient le beurre par pétrissage, et près de 70 % faisaient un malaxage rapide de moins de cinq minutes.

Les méthodes de moulage du beurre étaient assez variées : moules en bois, palettes, moulage à la main. Le beurre était systématiquement emballé dans du papier ingraissable et placé au frigo.

#### 5. Risques microbiologiques liés à la consommation de beurre au lait cru

Le lait et les produits laitiers à base de lait cru sont susceptibles d'être contaminés par des bactéries nocives pour la santé. Ces bactéries contaminent le lait par voie endogène ou exogène. La contamination endogène signifie par le système sanguin ou la mamelle de la vache. La contamination exogène, quant à elle, a lieu pendant la traite ou la transformation du lait, et est souvent due à des problèmes d'hygiène des mamelles, du matériel ou de l'environnement<sup>18</sup>.

Les bactéries pathogènes les plus fréquemment présentes dans les produits à base de lait cru, tels que le fromage ou le beurre, sont *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *E. coli* et *Staphylococcus aureus*<sup>18 19</sup>. Toutes les souches d'*E. coli* et de *S. aureus* ne sont pas pathogènes, mais certaines le sont comme les VTEC (*E. coli* producteurs de vérotoxine aussi appelés *E. coli* producteurs de shigatoxine (STEC), ou encore les *E. coli* entérohémorragiques (EHEC))<sup>20</sup> et les staphylocoques dorés producteurs d'entérotoxine.

Afin de prévenir leur présence ou leur développement à des niveaux non souhaités, des normes de sécurité alimentaire ont été établies, sous forme de critères de sécurité des denrées alimentaires et de critères d'hygiène du procédé. L'AFSCA<sup>21</sup> les définit comme suit. « *Un critère de sécurité des denrées alimentaires est un critère réglementaire définissant l'acceptabilité d'un produit ou d'un lot de denrées alimentaires, applicable aux produits mis sur le marché. [...] Un critère d'hygiène du procédé est un critère réglementaire indiquant l'acceptabilité du fonctionnement du procédé de production. Un tel critère n'est pas applicable aux produits mis sur le marché. Il fixe une valeur indicative de contamination dont le dépassement exige des mesures correctives destinées à maintenir l'hygiène du procédé conformément à la législation sur les denrées alimentaires.* »

Le beurre au lait cru doit respecter les critères de sécurité repris dans le tableau 1 ci-dessous. Le beurre est également soumis à un critère d'hygiène du procédé. Le respect de ce critère est évalué par la quantité d'*E. coli* présente par gramme de beurre en fin du procédé de fabrication. La limite satisfaisante (m) est de <10 UFC/g et celle acceptable (M) est de  $\leq 100$  UFC/g. Lors d'une analyse de beurre, 5 (n) échantillons sont évalués et seuls deux (c) échantillons peuvent présenter une contamination comprise entre m et M. Dans le cas contraire, ou si un échantillon a une contamination >100 UFC/g, le beurre ne satisfait pas au critère d'hygiène du procédé et des mesures d'hygiène doivent être prises. Ces critères d'hygiène pour le beurre au lait cru<sup>11</sup> sont le cœur de ce travail.

Tableau 1 : Critères belges de sécurité pour le beurre au lait cru.<sup>21</sup>

Pathogène	Limite	Stade d'application du critère
Listeria monocytogenes	100 UFC/g <sup>1</sup>	Produits mis sur le marché pendant leur durée de conservation
Salmonella	Non détecté dans 25 g	
VTEC	Non détecté dans 25 g	

## B. *Escherichia coli*

*E. coli* est une bactérie présente naturellement dans le tube digestif des mammifères. On estime que, dans 1 g de fèces de mammifères, entre 10<sup>3</sup> et 10<sup>6</sup> coliformes seraient retrouvés, dont 90 % seraient des *E. coli*<sup>22</sup>. Ces dernières sont des indicatrices directes de contamination fécale, alors que les coliformes sont des indicateurs d'une possible contamination fécale<sup>23</sup>. En effet, les tests de détection des coliformes ne permettent pas de différencier les coliformes fécaux des non fécaux<sup>23</sup>. L'origine des coliformes détectés peut être fécale, mais également environnementale ou industrielle<sup>24</sup>.

La plupart des souches d'*E. coli* ne sont pas dangereuses pour l'Homme et peuvent même être bénéfiques, certaines participant à la synthèse de vitamines dans l'intestin<sup>24</sup>. Cependant, les VTEC peuvent provoquer des troubles intestinaux graves. En cas d'infection chez l'homme par des VTEC, la souche O157:H7 est souvent identifiée, même si d'autres souches peuvent aussi causer des problèmes de santé<sup>19</sup>. Il n'existe pas de méthodes d'analyse performantes en routine pour la recherche des VTEC, à l'exception de la souche O157:H7<sup>22,25</sup>.

Les *E. coli* sont des entérobactéries bacilles mobiles ou immobiles à Gram négatif. La température optimale pour leur croissance est de 37 °C, mais elles peuvent se développer de 4 °C à 46 °C. Elles font donc partie des coliformes thermotolérants<sup>24</sup>. Elles tolèrent également des pH compris entre 4,6 à 9,5<sup>26</sup>. Les *E. coli* sont aéroanaérobies facultatives et poussent sur des milieux ordinaires ou lactés<sup>27</sup>. En effet, *E. coli* peut fermenter le lactose<sup>24</sup>.

Plusieurs méthodes permettent de détecter *E. coli* dans les aliments : méthode culturale sur milieu adapté, méthode moléculaire incluant la réaction en chaîne par polymérase (PCR), méthode immunologique (comme IMS (ion mobility spectrometry), EIA (Enzymoimmunoassay), RPLA (Reverse passive latex agglutination) ...), et méthode combinant le moléculaire à l'immunologique (IMS-PCR (en temps réel))<sup>28</sup>.

Pour la détection d'*E. coli* dans des aliments, dont les produits laitiers, les méthodes validées par l'AOAC International (Association of Official Analytical Chemists) reposent sur la faculté des bactéries à fermenter le lactose<sup>29</sup>. La méthode de détection standard utilisant les nombres les plus probables (most probable-number - MPN) se base sur la production de gaz dans un bouillon de lauryl tryptose lors de la fermentation du lactose. Cependant, cette méthode n'est qu'une prédiction de la présence d'*E. coli*, car d'autres coliformes peuvent également produire du gaz dans ce bouillon. Une étape de validation est nécessaire pour s'assurer que la fermentation est effectivement due à la présence d'*E. coli*. Cette méthode ne permet donc pas l'obtention rapide de résultats (4 à 6 jours). Une méthode beaucoup plus rapide et sélective a été mise au point, basée sur le clivage d'un substrat contenant du glucuronide par l'enzyme β-glucuronidase produites par 97 % des *E. coli*, qui sont donc dites « β-glucuronidase positives ». *A contrario*, certaines souches comme la O157:H7 sont β-glucuronidase négatives et ne peuvent donc pas être détectées par cette méthode<sup>30</sup>. Il faut également noter que quelques souches de *Salmonella* spp., *Shigella* spp. et *Yersinia* spp. produisent l'enzyme et peuvent

<sup>1</sup> Pour *Listeria* il y a 2 critères (selon le règlement (CE) N° 2073/2005)<sup>31</sup>  
 Non détecté dans 25 g avant la mise sur le marché  
 100 ufc/g pendant la durée de conservation

interférer dans la détection des *E. coli*<sup>29</sup>. En Belgique, c'est cette méthode qui est reconnue comme méthode officielle par l'AFSCA pour la détection et le dénombrement d'*E. coli* dans les aliments pour l'homme et les animaux et sur les carcasses<sup>30</sup>. C'est d'ailleurs aussi la méthode d'analyse de référence mentionnée dans le Règlement (CE) n° 2073/2005<sup>31</sup>.

### C. *E. coli* dans le beurre

Comme mentionné dans le point expliquant les risques microbiologiques liés à la consommation de beurre au lait cru, *E. coli* est un indicateur d'hygiène. Le beurre doit suivre les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires du Règlement (CE) n°2073/2005<sup>31</sup> repris dans le tableau 2 pour cette bactérie.

Tableau 2 : Critère d'hygiène en *E. coli* dans du beurre au lait cru <sup>11</sup>

Type d'aliment	Micro-organisme	Plan de prélèvement		Valeur limite		Stade auquel s'applique le critère	Stade auquel s'applique le critère
		n	c	m	M		
2.2.6 Beurre et crème au lait cru ou lait ayant subi un traitement thermique plus faible que la pasteurisation	<i>E. coli</i> [6]	5	2	10 UFC/g	100 UFC/g	Fin du procédé de fabrication	Amélioration de l'hygiène de production et de la sélection des matières premières

Sur une période allant de septembre 2006 à mars 2009, la Cellule Qualité Produits Fermiers (CQPF-ancienne dénomination de DiversiFerm), a examiné 333 échantillons de beurre au lait cru pour connaître le pourcentage répondant aux critères officiels pour *E. coli*<sup>32</sup>. L'analyse des beurres était faite de façon volontaire par les producteurs dans le cadre de leur autocontrôle. Les résultats obtenus étaient les suivants : 53 % des produits contenaient plus de 100 UFC/g, 16 % se trouvaient entre les deux limites et 31 % contenaient moins de 10 UFC/g. Dans un poster proposé par la CQPF, les analyses semestrielles de 90 producteurs de janvier 2007 à décembre 2010 ont été étudiées<sup>33</sup>. Il en est ressorti que 43,3 % étaient satisfaisantes, 22,8 % se trouvaient entre les deux valeurs seuil et que 33,9 % n'étaient pas conformes. Ces chiffres montrent bien un problème récurrent de contamination en *E. coli* dans le beurre au lait cru wallon.

La présence d'*E. coli* peut avoir diverses origines liées à la vache ou à l'environnement. Dans la figure 3 sont reprises les origines possibles d'une contamination classées par ordre d'importance pour la transformation laitière.



Figure 3 : Origine et vecteurs de contamination en *Escherichia coli* à explorer, de la plus fréquente à la moins fréquente<sup>22</sup>

En 2010, une étude plus approfondie avait été réalisée dans le cadre d'un mémoire dans une exploitation productrice de beurre<sup>33</sup>. Celle-ci avait démontré que la cause majeure de la contamination en *E. coli* provenait du nettoyage lors de l'écémage, plus particulièrement au niveau du tuyau par lequel le lait entier passe du bac d'attente à l'écèmeuse. Cette étude avait également montré que cette contamination était amplifiée lors de la maturation.

### III. Objectifs

L'objectif de ce travail était d'analyser la contamination en *E. coli* dans du beurre au lait cru en vue d'améliorer la qualité sanitaire du produit et, en particulier, d'identifier dans quelle(s) phase(s) du processus de fabrication, sur quelle(s) surface(s) et à quel(s) stade(s), la contamination en *E. coli* apparaissait. Cette contamination a en effet comme conséquence que les beurres produits ne respectent pas les critères d'hygiène alimentaire pour cette bactérie.

Les éléments favorisant le développement de la bactérie *E. coli* tout au long du processus de fabrication du beurre ont également été étudiés, notamment l'impact de la qualité microbiologique du lait entier au début de celui-ci.

Enfin, différentes pratiques de production du beurre ont été comparées afin de déterminer si celles-ci influencent la charge microbienne en *E. coli* dans le beurre au lait cru.

### IV. Matériels et méthode

#### A. Sélections des fermes

Des échantillons de surface et de produits laitiers ont été récoltés dans six fermes productrices de beurre au lait cru en Wallonie (nommées A, B, C, D, E et F).

La sélection des fermes a été réalisée sur base de l'identification d'une contamination récente en *E. coli* dans le beurre produit sur base des données de DiversiFerm et du Comité du Lait (CdL). Cette contamination avait été détectée dans le produit lors d'analyses microbiologiques semestrielles d'autocontrôle imposées par l'AFSCA<sup>11</sup> et se basant sur le Règlement (CE) n° 2073/2005<sup>31</sup>. Les fermes retenues pour cette étude présentaient différents modes de production du beurre, notamment au niveau de l'équipement de traite, de l'utilisation de ferments pour la maturation, ou du revêtement et de l'axe de rotation de la baratte. Les caractéristiques de chaque ferme sont reprises dans le tableau 3. Il est à noter que les fermes utilisant des robots de traite possédaient toutes la même marque et le même modèle de robot. Les échantillons ont été prélevés durant le cycle de production du beurre. Lors de cette étude, trois cycles ont été suivis pour chacune des six fermes, soit un total de 18 cycles. Un cycle comprend le jour de traite et d'écémage, le temps de maturation et le jour de barattage.

Tableau 3 : Caractéristiques des fermes de l'étude.

Ferme	Équipement de traite	Utilisation de ferments	Type de ferments	Revêtement et axe de rotation de la baratte
A	Salle de traite	Oui	MA 4002	Horizontal en inox
B	Robot	Oui	Flora Danica	Vertical en bois
C	Salle de traite	Non	/	Horizontal en bois
D	Robot	Non (cycle 1) Oui (cycles 2 et 3)	/ MA 4001	Vertical en inox
E	Robot	Oui	Flora Danica	Vertical en inox
F	Robot	Oui	Flora Danica	Vertical en bois

## B. Échantillonnage

### 1. Surfaces

Cinq points de prélèvements de surface avaient initialement été retenus (tableau 4), mais des aménagements ont été réalisés en fonction des installations sur le terrain. Pour chaque point, trois répétitions ont été effectuées.

Tableau 4 : Points de prélèvement des surfaces.

Échantillon de surface	Point de prélèvement
Arrivée du lait avant l'écémage (points 1,2,3 des figures 4 et 5)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pour les salles de traite : la sortie du lactoduc, une paroi et le fond du bac d'attente du lait entier (figure 5)</li> <li>• Pour les robots : tuyau sortant du réservoir tampon, à trois niveaux différents (figure 4)</li> </ul>
Passage vers l'écémeuse (points 4,5,6 des figures 4 et 5)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pour les fermes avec salle de traite : trois points pris à différentes hauteurs du conduit d'évacuation du bac d'attente pouvant être fermé par une vanne (figure 5)</li> <li>• Pour les fermes avec robot de traite :               <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Fermes B et E : bol d'attente du lait entier et robinet de ce bol permettant le passage du lait entier au bol de l'écémeuse (figure 8 chap. V)</li> <li>○ Fermes D et F : trois points pris à différentes hauteurs du tuyau reliant la sortie du réservoir tampon à l'écémeuse (vers le réservoir, au milieu, vers l'écémeuse) (figure 4)</li> </ul> </li> </ul>
Écémeuse (points 7,8,9 des figures 4 et 5)	Bol de réception du lait ou entrée du lait, tube de sortie de la crème et tube de sortie du lait écémé
Récipient de maturation des crèmes	Surface des récipients (parois des côtés ou fond)
Baratte	Fond de la baratte, la partie tournante et la partie fixe*

\*La baratte à axe horizontal en bois (annexe 2) utilisée par la ferme C ne comporte pas de partie fixe ; pour la troisième répétition, le prélèvement de la baratte a été fait sur une autre partie tournante.



Figure 5 : Prélèvement de surface pour l'écémage dans la ferme D.



Figure 4 : Prélèvement de surface pour l'écémage dans la ferme A.

## 2. Produits laitiers

Dans cette étude, cinq produits laitiers ont été analysés : le lait entier, le lait écrémé, la crème, la crème maturée et le beurre. Pour chacun des produits, cinq répétitions ont été traitées, tel que lors des analyses obligatoires imposées par Règlement (CE) N°2073/2005<sup>31</sup> (comparaison du nombre d'échantillons prélevés (n) avec le nombre d'échantillons se trouvant entre la limite de satisfaction et d'acceptabilité (c)).

Le lait, entier et écrémé, ainsi que la crème, ont été prélevés pendant l'écémage à intervalle régulier. Pour chaque répétition, les prélèvements des échantillons de chacun des trois produits se suivaient immédiatement. D'une façon générale, les échantillons étaient prélevés comme suit : le lait entier à la sortie du lactoduc pour les fermes avec salle de traite, et à la sortie du réservoir tampon pour celles avec robot ; et la crème et le lait écrémé à la sortie de l'écémeuse avant qu'ils ne coulent dans le seau de maturation ou le tank à lait écrémé. Toutefois, l'équipement des fermes D et F n'a pas permis de récolter du lait entier pendant l'écémage (le tube sortant du tank tampon menant en effet directement à l'écémeuse). Par conséquent, les 5 échantillons de lait entier de ces deux fermes ont été prélevés immédiatement avant l'écémage sans temps d'attente entre les prises.

Une systématisation de la prise d'échantillons de crème maturée dans les différentes exploitations n'a pas été possible en raison du nombre variable de seaux utilisés pour le remplissage de la baratte d'une exploitation à l'autre (au maximum quatre, sauf pour la ferme A). Dans la mesure du possible, au minimum un échantillon a été prélevé par seau de maturation afin d'obtenir cinq échantillons de la crème maturée utilisée pour un même barattage. Dans un premier temps, un échantillon de crème était prélevé dans chacun des seaux. Ensuite, si le nombre de seaux était < 5, un deuxième échantillon était pris dans le ou les récipients avec la plus grande quantité de crème, afin d'atteindre les cinq prélèvements prévus. Si tous les récipients étaient de même contenance, le choix des seaux analysés une deuxième fois se faisait au hasard. La ferme A représentait une exception. En effet, le barattage y nécessitait plus de cinq seaux (en moyenne 12 seaux de crème obtenus lors de six traites), car le volume de la baratte était de près de 300 L. Il a donc été décidé de prélever un échantillon de crème maturée provenant de chaque traite, c'est-à-dire six échantillons de crème maturée pour cette ferme.

Dans toutes les exploitations, le beurre a été prélevé après le malaxage, mais avant l'éventuel salage, au hasard, à cinq endroits différents dans la baratte.

Après chaque visite en ferme, les échantillons ont été transportés en milieu réfrigéré jusqu'au laboratoire pour y être mis en culture le jour même.

### C. Choix du matériel d'analyse

L'énumération des *E. coli* dans les échantillons prélevés a été réalisée à l'aide de plaques de comptage du type Rapid *E. coli*/coliform (3M, Two Harbors, USA).

Ces plaques, aussi appelées Petrifilms, sont équivalentes aux traditionnelles boîtes de Petri utilisées en microbiologie. Les Petrifilms ont l'avantage de supprimer toutes les étapes de préparation du milieu et du coulage des boîtes. Au vu du grand nombre d'échantillons traités dans cette étude (> 700 échantillons), il était nécessaire de recourir à du matériel prêt à l'emploi comme le sont les Petrifilms afin de gagner du temps. En effet, les échantillons étaient analysés le jour de leur prélèvement. La méthode d'analyse à l'aide de Petrifilms est qualifiée de « rapide », car elle permet d'obtenir les résultats entre 18 et 24 h après inoculation.

Cette méthode a été validée par l'AOAC International (Association of Official Analytical Chemists) comme une méthode d'analyse officielle (AOAC® Official Method Analysis 2018.13)<sup>34</sup>. Elle a aussi été

certifiée (Certificate #051801) comme étant aussi performante que les méthodes ISO pour l'énumération des coliformes (ISO 4832) et des *E. coli* à  $\beta$ -glucuronidase positive (ISO 16649) par AOAC® Performance Tested Methods SM<sup>35</sup>.

Enfin, il a été décidé d'utiliser des plaques détectant à la fois les coliformes et les *E. coli*. Ces Petrifilms permettent en effet d'obtenir des informations supplémentaires sur la charge microbiologique des échantillons. Les coliformes restent des indicateurs possibles de contamination fécale et représentent donc un indicateur supplémentaire de l'hygiène des procédés. Les Petrifilms utilisés permettent également de dénombrer les souches d'*E. coli* à  $\beta$ -glucuronidase négative, car celles-ci sont mises en évidence comme coliformes.

## D. Méthode

### 1. Préparation des échantillons de produits laitiers

Les produits laitiers prélevés ont été dilués 10 fois dans une solution de peptone-sel préparée selon la norme ISO 6887-1<sup>36</sup>. Le choix s'est porté sur ce diluant, qui est celui proposé dans la fiche d'instructions des Petrifilms comme étant celui qui offre le taux de récupération maximal<sup>35</sup>. Les prélèvements comprenaient 10 g (pour les échantillons solides – crème, crèmes maturées et beurre) ou 10 mL (pour les liquides – lait entier et écrémé). L'homogénéisation a été réalisée à l'aide du Lab blender stomacher 400 (Seward, Worthing, UK) pendant deux cycles d'une minute. Ensuite, 1 mL de la solution obtenue est prélevé et inoculé sur le Petrifilm.

Il a été décidé d'analyser tous les échantillons au même taux de dilution,  $10^{-1}$ . Cette dilution est la dilution minimale et permet d'identifier la présence en bactéries à 10 UFC/mL dans les échantillons.

### 2. Préparation des échantillons de surfaces

Des Petrifilms ont été réhydratés avant les visites afin de réaliser le prélèvement par contact direct de la surface, chaque fois que c'était possible<sup>37</sup>. Les Petrifilms ont été hydratés en déposant 1 mL de solution de peptone-sel. Ils ont été stockés au frigo avant leur utilisation pendant maximum 7 jours<sup>38</sup>. Lors de leur utilisation sur le terrain, il suffisait de lever le film supérieur afin de mettre en contact l'Agar et la surface à analyser pendant 10 secondes. Le film était ensuite repositionné. Les Petrifilms hydratés étaient transportés dans des sachets en plastique fermés afin d'éviter toute contamination avant ou après leur utilisation.

Lorsque les surfaces n'étaient pas assez grandes ou accessibles pour réaliser le prélèvement par contact direct à l'aide de Petrifilm (surface de 30 cm<sup>2</sup>), des prélèvements par écouvillonnage ont été effectués. Les écouvillons ((Swab-Sampler with 10 mL Buffered Peptone Water Broth, 3M, Two Harbors, USA) utilisés étaient stériles et plongés dans 10 mL de solution tampon peptonée. Les surfaces ont été frottées avec les écouvillons en effectuant 10 rotations. Les tubes ont été vortexés pendant 10 secondes à vitesse maximale avant de prélever 1 mL de la solution pour l'inoculer sur un Petrifilm non hydraté.

### 3. Incubation et lecture des Petrifilms

Les Petrifilms ont été incubés pendant 18 à 24 h dans une étuve à  $30 \pm 1^\circ\text{C}$  en suivant la méthode validée pour les produits laitiers AOAC® Official Method Analysis 2018.13<sup>34</sup> permettant l'énumération des *E. coli* et des coliformes sur les Petrifilms.

Le comptage des colonies sur les Petrifilms a été réalisé selon le guide d'interprétation de 3M<sup>39</sup>. Les colonies bleues sont les colonies de *E. coli* (figure 6), car la coloration est due à l'activité de la  $\beta$ -glucuronidase, enzyme présente dans 97 % des souches de cette bactérie, sur le milieu contenant 5-

bromo-4-chloro-3-indolyl-D-glucuronide (BCIG). Les Petrifilms permettent également de dénombrer les autres souches de coliformes ( $\beta$ -glucuronidase négatives). Ces autres colonies de coliformes apparaissent en rouge avec des bulles de gaz piégées autour d'elles. La coloration est due au milieu utilisé, la gélose VBRL (Violet Red Bile Lactose Agar), qui inhibe la croissance des bactéries à Gram positif et indique la fermentation du lactose en acide par l'indicateur de pH, rouge neutre ou rouge de toluylène, et la précipitation des acides biliaires.

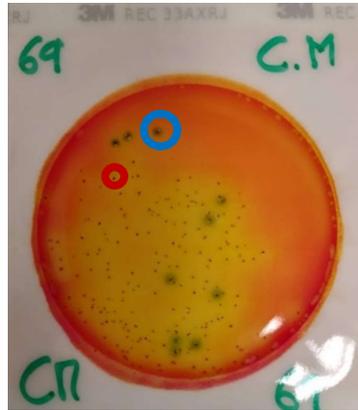


Figure 6 : Photo du Petrifilm de l'échantillon de crème maturée 69. Le cercle bleu entoure une colonie d'*E. coli* et le rouge une colonie de coliformes

#### 4. Traitement des données

Les résultats ont été analysés de façon descriptive en utilisant le programme Excel de Microsoft. Les résultats obtenus pour les analyses de beurre au lait cru sont comparés aux critères microbiologiques du Règlement (CE) n°2073/2005<sup>31</sup>.

Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du programme Minitab® 19.2020.1 (64-bit).

Pour les Petrifilms ayant une charge bactérienne trop importante pour être comptée, une valeur de 15000 UFC/g a été attribuée. Tous les résultats ont été transformés en  $\log_{10}$  avant d'être traités.

La corrélation entre deux variables a été évaluée par régression – droite d'ajustement (si  $p > 0,05$ , l'association n'est pas statistiquement significative et si  $p \leq 0,05$ , l'association est statistiquement significative)<sup>40</sup>.

L'effet d'un facteur sur la qualité microbiologique a été évalué au moyen d'une ANOVA à un facteur ( $H_0$  : absence de variabilité si  $p > 0,05$  et  $H_1$  : présence de variabilité si  $p < 0,05$ ). La normalité et l'égalité des variances, qui sont les conditions d'application d'un test ANOVA, ont été testées à l'aide des tests respectifs de Ryan & Joiner et de Levene. Dans certains cas, un modèle linéaire général (GLM) plutôt que l'ANOVA a été utilisé pour calculer l'effet d'un facteur en tenant compte d'une covariable.

## V. Résultats et discussion

Au cours de cette étude, 18 lots de cinq échantillons de beurre au lait cru ont été analysés. Pour rappel, les exploitations dans lesquelles les échantillons ont été prélevés sont des fermes ayant connu à plusieurs reprises des problèmes d'*E. coli* dans le beurre produit. La figure 7 reprend les pourcentages de lots de beurre au lait cru respectant les normes en vigueur<sup>31</sup> pour les *E. coli*. Si les 5 échantillons du lot ont une teneur en *E. coli*  $\leq 10$  UFC/g, le lot échantillonné est satisfaisant ; si au maximum deux échantillons ont une teneur  $\leq 100$  UFC/g, mais que la teneur des autres échantillons du lot est  $\leq 10$  UFC/g, le lot est acceptable, et si dans un échantillon la teneur en *E. coli* est  $>100$  UFC/g ou si trois échantillons au moins ont une teneur  $>10$  UFC/g, le lot est insatisfaisant. Globalement, 14 lots de beurre sur les 18 analysés (78%) étaient non conformes.

Répartition des beurres analysés en fonction des normes pour *E. coli*

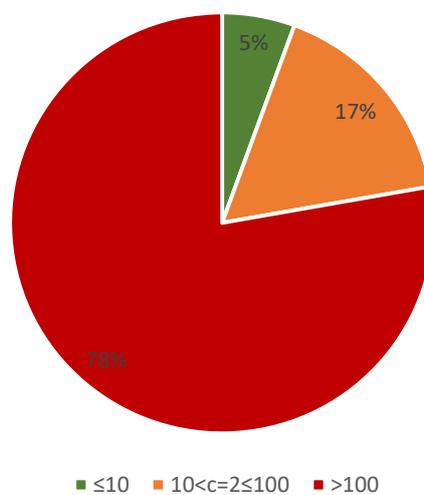


Figure 7: Répartition des beurres analysés en fonction des normes pour *E. coli*.

L'analyse des résultats tente de mettre en évidence les facteurs influençant le développement d'*E. coli* provoquant cette non-conformité. Les résultats présentés concernent d'abord l'hygiène de l'équipement utilisé dans le processus de fabrication du beurre (de la sortie du lactoduc à la baratte incluse) mesurée au moyen des prélèvements de surfaces. Les résultats d'analyse des prélèvements de produits laitiers sont détaillés afin de pouvoir déterminer si la contamination en *E. coli* du beurre est due à une contamination présente dans le produit initial et/ou si elle se développe au cours des différentes étapes du processus de fabrication.

L'ensemble des résultats pour les échantillons prélevés (surfaces et produits laitiers) peut être consulté en Annexes (Annexe 3 et 4)

## A. Analyse des prélèvements de surfaces

Un critère essentiel lors de la fabrication de produits alimentaires est le respect des bonnes pratiques d'hygiène<sup>8</sup>. Parmi celles-ci figurent la propreté du matériel et des surfaces en contact avec le produit.

Les prélèvements de surfaces permettent de déterminer si le nettoyage a été réalisé correctement. Le tableau 5 ci-dessous présente les moyennes de résultats pour chaque ferme et chaque visite reprises en cinq groupes :

- 0 : absence de bactéries sur la surface
- ≤10 : légère présence de bactéries sur la surface
- ≤ 100 : présence forte de bactéries sur la surface
- ≤1000 : importante présence de bactéries sur la surface.
- >5000 : très importante présence de bactéries sur la surface

Tableau 5 : Dénombrements en *E. coli* et en coliformes totaux pour les prélèvements de surfaces.

Lieux de contamination de l'écrémeuse :

<sup>b</sup> : bol de réception du lait entier - <sup>tc</sup> : tube de sortie de la crème - <sup>tl</sup> : tube de sortie du lait écrémé.

Ferme	Visite	Arrivée du lait		Passage vers l'écrémeuse		ÉcRémeuse		Récipient de maturation		Baratte	
		<i>E. coli</i>	colif. tot.	<i>E. coli</i>	colif. tot.	<i>E. coli</i>	colif. tot.	<i>E. coli</i>	colif. tot.	<i>E. coli</i>	colif. tot.
A	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	≤ 10	> 5000	0	≤ 10	≤ 10 <sup>b</sup>	> 5000 <sup>b tc tl</sup>	0	0	0	0
	3	≤ 10	≤ 100	≤ 100	> 5000	≤ 10 <sup>b</sup>	≤ 1000 <sup>b tc</sup>	0	≤ 10	0	0
B	1	≤ 10	≤ 1000	≤ 100	0	≤ 10 <sup>b</sup>	0	≤ 10	0	0	0
	2	0	≤ 10	≤ 100	> 5000	0	≤ 10	0	≤ 100	0	0
	3	> 5000	> 5000	> 5000	> 5000	> 5000 <sup>tl</sup>	> 500 <sup>tl</sup>	≤ 100	≤ 10	0	0
C	1	0	0	0	0	0	0	> 5000	0	≤ 10	> 5000
	2	0	≤ 100	0	≤ 10	0	≤ 10 <sup>b tc</sup>	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
D	1	≤ 100	≤ 10	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	≤ 1000	≤ 10	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	> 5000	> 5000	> 5000	> 5000	≤ 100 <sup>b</sup>	≤ 100 <sup>b</sup>	0	0	0	0
E	1	0	≤ 10	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	≤ 10	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	> 5000	> 5000	0	0	0	0	0	0	0	0
F	1	0	≤ 10	0	> 5000	0	0	0	0	0	0
	2	0	≤ 100	0	≤ 10	0	≤ 10 <sup>tc tl</sup>	0	0	0	≤ 10
	3	0	0	0	0	≤ 10 <sup>tl</sup>	0	0	0	0	0

Comme le montrent les résultats du tableau 5, des contaminations régulières sont observées dans l'arrivée de lait. Ces tuyaux sont lavés en même temps que l'équipement de traite (lavage alcalin et acide) chez tous les producteurs de l'étude, alors que le reste de l'équipement (de l'écRémeuse à la baratte) est lavé soit à la main, soit au lave-vaisselle. Il serait donc intéressant de vérifier si l'équipement de traite est nettoyé correctement, en suivant les checklists établies par le CdL<sup>41,42</sup>, et de prendre des mesures correctives<sup>43</sup>. Une contamination en *E. coli* assez importante est également observée chez le producteur B et dans les exploitations A et D lors de la dernière visite au niveau du passage à l'écRémeuse. Ce passage est un point de contamination qui a déjà été mis en évidence<sup>44</sup>, car il est souvent étroit. Les analyses de surfaces de l'écRémeuse ont montré qu'en cas de présence d'*E. Coli*, ces bactéries étaient généralement localisées sur le bol de réception du lait entier. Dans la majorité des cas, en revanche, le récipient de maturation et la baratte étaient propres.

1. Analyse des situations ferme par ferme :

a) Ferme A

La ferme A est équipée d'une salle de traite. Le producteur A écrème presque tous les jours, et cela lors des deux traites (matin et soir). Lors des deux premières visites, le suivi d'écrémage s'est déroulé durant la traite du matin alors que pour la troisième visite, le suivi a eu lieu durant celle du soir. Les résultats de la troisième visite montrent une contamination légèrement plus élevée en *E. coli* que lors des deux visites précédentes. Ces résultats sont assez étonnants, car cette exploitation a fait le choix de laver complètement (au détergent « Dreft ») l'équipement de l'écrémage après la traite du matin et de n'effectuer qu'un gros rinçage à l'eau bouillante après la traite du soir. En effet, étant donné que le lavage complet est réalisé avant la traite du soir, les surfaces de la troisième visite auraient dû être plus « propres » que celles des deux premières visites où l'équipement avait uniquement été rincé avant la prise d'échantillon.

b) Ferme B

Les résultats des analyses des surfaces de la ferme B permettent d'identifier un point de contamination, indiqué par un cercle rouge sur la figure 8, et clairement visible dans les chiffres du tableau 6. Il s'agit du robinet permettant le passage du lait entier du bol d'attente à l'écrémeuse. Dans cette exploitation, ce passage, en plus d'être étroit, comporte un coude



Figure 8: photo de l'écrémeuse de la ferme B avec les différents points de prélèvement.

Tableau 6 : Détails des prélèvements de surfaces "passage à l'écrémeuse".

Prélèvement de surface du passage vers l'écrémeuse de la ferme B					
Fond du bol		Paroi du bol		Orifice/intérieur du robinet	
UFC <i>E. coli</i>	UFC colif tot	UFC <i>E. coli</i>	UFC colif tot	UFC <i>E. coli</i>	UFC colif tot
4	0	1	0	67	0
0	>15000	7	>15000	44	>15000
>15000	>15000	>15000	>15000	>15000	>15000

Dans cette exploitation, des contaminations des récipients de maturation ont également été mises en évidence. Deux types de récipients étaient utilisés pour la maturation : des récipients plus récents de petit volume et d'autres plus anciens de grand volume. En discutant avec les producteurs et en comparant les résultats obtenus pour les deux types de récipients, l'hypothèse envisagée pour expliquer cette contamination serait que les irrégularités apparaissant sur la paroi et le fond des seaux en plastique avec l'usure<sup>45</sup> permettrait la persistance de bactéries même après nettoyage. Il est également à noter que tous les résultats de la dernière visite pour cette exploitation sont très hauts, ce qui laisse à supposer que le nettoyage n'a pas été réalisé, ou tout au moins pas correctement, avant cet écrémage.

c) Ferme C

Lors de la première visite à la ferme C, un seul des prélèvements effectués sur le fond d'une cruche de maturation avait donné un résultat très chargé en *E. coli*. Les résultats des deux autres répétitions sur les récipients de maturation lors de cette visite, ainsi que les répétitions des deux autres visites pour ce prélèvement, n'ont pas montré de contamination. Ceci indiquerait donc plutôt un nettoyage insuffisant ponctuel. Une légère contamination a été détectée lors de la première visite pour une des trois répétitions de la baratte (voir résultats détaillés à l'Annexe 3). Pour rappel, bien que la baratte utilisée dans cette ferme soit en bois, le revêtement de celle-ci ne peut pas être considéré comme un

facteur de contamination. En effet, la présence d'*E. coli* n'a été détectée qu'une seule fois parmi tous les prélèvements effectués sur les barattes. Or, d'autres producteurs visités utilisaient également des barattes en bois. L'hypothèse que le type de revêtement n'est pas déterminant est appuyée par un test ANOVA (1) dont la p-valeur >0,05 confirme qu'il n'y a pas d'effet significatif.

d) Ferme D

Dans le cas de la ferme D, aucune présence d'*E. coli* n'a été détectée à d'autres endroits qu'à l'arrivée du lait lors des deux premières visites. Lors de la troisième visite, en revanche, d'importantes contaminations des surfaces sont apparues, ce qui laisse à supposer que, comme pour la ferme B, le nettoyage n'avait pas été réalisé – ou pas correctement – avant cet écrémage.

e) Ferme E

Pour l'exploitation E, une seule répétition sur les neuf prélèvements a montré la présence d'*E. coli*. Celle-ci se situait à l'arrivée de lait.

f) Ferme F

Le seul endroit au niveau duquel des *E. coli* ont été détectés dans la ferme F, est le tube de sortie du lait écrémé, et ceci lors de la troisième visite. Puisque le lait écrémé n'entre pas dans le processus de fabrication du beurre, la qualité de celui-ci ne peut pas être impactée par cette contamination.

## B. Analyse des produits laitiers

### 1. Influence de la qualité des produits laitiers au cours du processus de fabrication du beurre

La qualité microbiologique du produit fini en *E. coli* est directement liée à celle du lait cru initial. Il est compliqué d'obtenir un produit laitier transformé dont la qualité répond aux normes si la qualité du lait initial n'est pas conforme<sup>46</sup>.

Pour la présente étude, la significativité des corrélations entre la qualité microbiologique du lait entier ou de la crème et celle du beurre est reprise dans le tableau 7. Si la p-valeur est  $\leq 0,05$ , l'association est statistiquement significative. Cependant, si la p-valeur est  $> 0,05$ , l'association n'est pas statistiquement significative.

Tableau 7 : Détermination de l'association entre la qualité microbiologique du lait entier ou de la crème et celle du beurre. Les p-valeurs significatives sont reprises en gras.

	P-valeurs			
	<i>E. coli</i> lait entier	<i>E. coli</i> crème	Colif. tot. lait entier	Colif. tot. crème
<i>E. coli</i> crème	<b>0,004</b>			
<i>E. coli</i> beurre	<b>0,040</b>	<b>0,004</b>		
Colif. tot. crème			0,267	
Colif. tot. beurre			0,599	<b>0,048</b>
Colif. tot. lait entier	<b>0,001</b>			

Les p-valeurs obtenues indiquent clairement une association significative entre les niveaux en *E. coli* dans le lait entier et la crème ainsi que le taux en coliformes totaux dans la crème, et les taux bactériens respectifs dans le beurre. Ce n'est par contre pas le cas pour la concentration en coliformes totaux dans le lait entier par rapport à celle dans le beurre. Logiquement, la qualité microbiologique de la crème en *E. coli* est également liée à celle du lait entier. Ce n'est toutefois pas le cas pour les coliformes totaux.

En Wallonie, les laiteries récompensent les producteurs dont le lait a une charge en *E. coli*  $\leq 50$  UFC/mL en offrant un bonus financier par litre de lait. Il est cependant conseillé d'utiliser un lait ayant une charge en *E. coli*  $\leq 10$  UFC/mL pour la transformation en produits frais au lait cru comme le beurre, afin que ceux-ci répondent aux normes en vigueur<sup>22</sup>. Par exemple, dans la fabrication du beurre, l'étape de maturation biologique est favorable au développement de bactéries lactiques bénéfiques, mais les conditions de la maturation permettent également une croissance des *E. coli*, même si ces conditions ne sont pas optimales.

Il est aussi à noter que l'association entre la quantité d'*E. coli* et de coliformes dans le lait entier est significative. En 2020, seulement 53,8% des 46 194 analyses de recherche de coliformes dans le lait réalisées par le CdL contenaient une charge bactérienne inférieure ou égale 50 UFC/mL<sup>47</sup>. Ces chiffres montrent bien que la qualité microbiologique en Wallonie peut être améliorée même si le lait n'est pas destiné à la transformation.

## 2. Facteurs influençant la qualité du lait entier

Plusieurs facteurs peuvent influencer la qualité finale du lait et donc celle du produit fabriqué. Ceux-ci vont être évalués dans ce chapitre.

### a) Effet de la ferme sur la qualité du lait

Un test ANOVA a révélé l'impact des fermes sur la qualité du lait (p-valeur = 0,001). La figure 9 représente en bleu les moyennes des logarithmes des niveaux d'*E. coli* dans le lait entier sur trois visites pour chaque ferme. Les moyennes de chaque visite sont également représentées par les points gris. Sur la figure 9, il est observé que la haute valeur moyenne de la ferme B est due à une répétition dont la charge en *E. coli* est bien supérieure aux deux autres. Une importante contamination des surfaces avait été mise en évidence pour cette ferme lors de la dernière visite. Dans la ferme D, la charge en *E. coli* du lait était supérieure à celle des autres fermes. Ceci est appuyé par les comparaisons deux à deux de Fisher (Tableau 8) qui permettent de distinguer les moyennes des variables significativement différentes.

Les producteurs de la ferme D ont expliqué avoir des problèmes récurrents en *E. coli* dans leur lait depuis qu'ils ont remplacé leur équipement de traite par un robot. La ferme E avait les mêmes problèmes. Cependant, dans la ferme E, les fournisseurs du robot ont réalisé des modifications (changement de filtres) qui ont eu pour résultat d'améliorer la qualité du lait. La ferme D est en attente que ces modifications soient également effectuées.

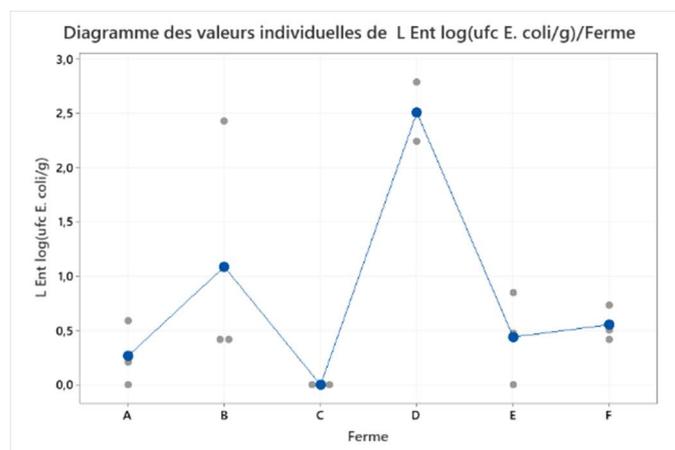


Figure 9 : Diagramme des valeurs moyennes en *E. coli* (log UFC/mL) des fermes. Les points bleus correspondent aux moyennes des trois visites. Les points gris correspondent aux moyennes des contaminations par visite individuelle.

Tableau 8 : Impact des fermes sur le taux en *E. coli* dans le lait cru - Groupement par la méthode de la plus petite différence significative (LSD) de Fisher et un niveau de confiance de 95 %

Ferme	N	Moyenne	Groupement		
D	3	2,505	A		
B	3	1,086		B	
F	3	0,554		B	C
E	3	0,441		B	C
A	3	0,265		B	C
C	3	0,000			C

Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.

b) Effet de l'équipement de traite sur la qualité du lait

Un test ANOVA a mis en évidence un effet significatif de l'équipement de traite sur la qualité du lait ( $p = 0,030$ ). Parmi les fermes utilisant un robot, les fermes D et F ont été différenciées des fermes B et E. En effet, dans les fermes B et E, le lait entier a été prélevé à différents moments de l'écémage alors que, pour les fermes D et F, toutes les répétitions de prélèvement de lait entier ont été effectuées au même moment juste avant l'écémage. Les comparaisons deux à deux de Fisher (Tableau 9) ont permis de révéler des différences significatives de qualité du lait entre les salles de traite et les robots pour lesquels les prélèvements ont été effectués juste avant l'écémage.

Tableau 9 : Impact de l'équipement de traite sur le taux en *E. coli* dans le lait cru - Groupement par la méthode de la plus petite différence significative (LSD) de Fisher et un niveau de confiance de 95 %.

Équipement de traite	N	Moyenne	Groupement	
Robot (prélèvements avant écémage)	6	1,529	A	
Robot (prélèvements pendant écémage)	6	0,764	A	B
Salle de traite (prélèvements pendant écémage)	6	0,133		B

Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.

Les charges en *E. coli* plus faibles obtenues pour les salles de traite par rapport aux robots peuvent être expliquées de la manière suivante. Pour l'écémage, les robots détournent le lait vers le réservoir tampon. Cette opération s'effectue sans refroidissement ou presque du lait détourné. Un écémage efficace demande que la température du lait à écimer soit supérieure à 25°C, ce qui est donc le cas. Cependant, les producteurs de cette étude qui utilisent un robot laissent le lait non refroidi dévié vers le réservoir tampon "en attente" pendant un long moment (trois heures environ sont en effet nécessaires pour qu'un réservoir de 500L soit plein), alors qu'il est recommandé que le lait obtenu de cette façon soit refroidi à 4 °C en moins de 3 heures<sup>48</sup>. La mise en attente du lait à température relativement élevée est donc propice au développement de bactéries. Pour les salles de traite, en revanche, l'écémage se fait en même temps que la traite. Le temps entre l'écémage et la traite est d'ailleurs signalé par l'AFSCA<sup>11</sup> comme étant un point critique permettant le développement de germes. Elle recommande donc d'écimer le lait chaud.

c) Effet de la contamination de l'arrivée de lait sur la qualité du lait

Un test ANOVA a été réalisé afin d'évaluer l'impact de la présence d'une contamination en *E. coli* dans l'arrivée de lait sur la qualité de celui-ci. La contamination a été qualifiée selon les cinq groupes utilisés pour l'analyse des prélèvements de surface (absence, légère, forte, importante et très importante). La p-valeur obtenue est de 0,006, confirmant l'effet significatif de la contamination de l'arrivée du lait sur la charge bactérienne en *E. coli* du lait entier.

La méthode LSD de Fisher (Tableau 10) permet de montrer que lorsqu'il n'y a pas de contamination ou que celle-ci est légère ( $\leq 10$  UFC), les moyennes ne sont pas significativement différentes. Cependant

les moyennes de ces deux classes sont significativement différentes de la contamination forte, importante et très importante.

Tableau 10 : Impact de la contamination de l'arrivée de lait sur le taux en *E. coli* dans le lait cru - Groupement par la méthode de la plus petite différence significative (LSD) de Fisher et un niveau de confiance de 95 %.

Contamination <i>E. coli</i> arrivée de lait	N	Moyenne	Groupement	
Forte	1	2,569	A	
Très importante	3	2,220	A	
Importante	1	2,207	A	
Aucune	10	0,104		B
Légère	3	0,000		B

Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.

### 3. Influence des ferments lors de la maturation

Les ferments sont des bactéries lactiques bénéfiques à la transformation de la crème ou du lait en raison de leur activité acidifiante, mais aussi de la libération d'arômes qu'ils entraînent. Un modèle linéaire général (GLM) a été construit afin de visualiser l'effet des ferments sur la charge en *E. coli* de la crème maturée avec comme covariable le taux d'*E. coli* dans le lait entier. Cette covariable est prise en compte, car l'ensemencement de la crème avec des ferments lactiques concurrence le développement de bactéries pathogènes, à condition que le produit initial ne soit que peu contaminé<sup>49</sup>.

Cette approche a permis d'identifier un effet significatif des ferments sur la qualité de la crème maturée (p-valeur = 0,034). La méthode LSD de Fisher (Tableau 11) illustre bien cette différence significative.

Tableau 11 : Effet des ferments sur le taux d'*E. coli* dans la crème maturée en fonction de la charge initiale en *E. coli* dans le lait entier - Groupement par la méthode de LSD de Fisher et un niveau de confiance de 95 %

Ferment	N	Moyenne	Groupement	
Non	4	4,188	A	
Oui	14	2,880		B

Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.

Une comparaison entre les différents ferments utilisés par les producteurs a été effectuée en utilisant la méthode LSD de Fisher (Tableau 12). Il en ressort que les crèmes maturées avec les ferments MA 4002 sont significativement différentes des crèmes maturées sans ensemencement et que les deux ferments MA sont groupés. Les ferments MA 4001 et 4002 (Danisco, Copenhague, Denmark)<sup>50,51</sup> sont constitués en proportions semblables des mêmes souches, qui sont, par ordre décroissant, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* et *Streptococcus thermophilus*. Il est généralement recommandé d'alterner l'usage des ces deux ferments afin d'éviter la problématique des phages. Le ferment Flora Danica (CHR Hansen, Horsholm, Denmark)<sup>52</sup> contient les mêmes souches de *Lactococcus* mais pas en même proportion - *L. lactis* subsp. *cremoris*, *L. lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* et *L. lactis* subsp. *lactis* – ainsi que des *Leuconostoc* mais pas de *S. thermophilus*. Une étude sur boîte de Petri a démontré que *L. lactis* subsp. *lactis* avait une action inhibitrice importante contre les *E. coli* alors que les sous-espèces *cremoris* et *lactis* biovar. *diacetylactis* avaient un effet inhibiteur moindre<sup>53</sup>.

Tableau 12 : Comparaison des ferments utilisés dans cette étude - Groupement par la méthode de LSD de Fisher et un niveau de confiance de 95 %.

Ferment	N	Moyenne	Groupement	
Non	4	4,128	A	
MA 4001	2	3,865	A	B
Flora Danica	9	3,082	A	
MA 4002	3	1,698		B

Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.

La construction d'un second GLM a révélé l'absence d'influence significative des ferments lactiques sur les niveaux en *E. coli* dans le beurre (p-valeur = 0,379).

Cependant, comme les niveaux d'*E. coli* dans la crème maturée et le beurre sont significativement associés (p-valeur de 0,039), l'effet des ferments lactiques sur la crème maturée a un effet sur le beurre malgré l'absence de significativité.

L'évolution moyenne du taux d'*E. coli* dans le beurre pour chaque visite et chaque ferme est représentée dans la figure 10. Il y a majoritairement une diminution de la charge d'*E. coli* entre la crème maturée et le beurre.

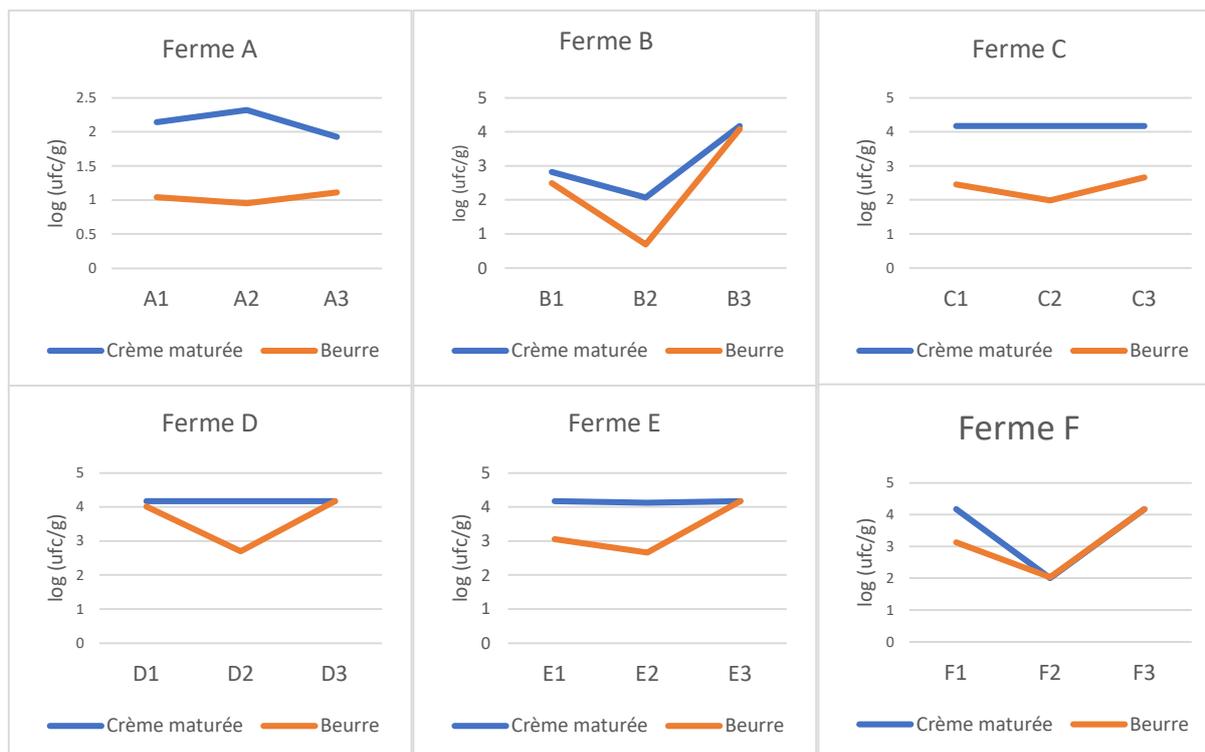


Figure 10 : évolution du taux de *E. coli* dans la crème maturée et le beurre pour chaque ferme et chaque visite

#### 4. Impact du mélange de crème maturée pour le barattage

Durant cette étude, la plupart des producteurs de cette étude effectuaient le barattage en mélangeant plusieurs crèmes maturées dans des récipients différents, c'est-à-dire des crèmes de plusieurs traites ou de plusieurs jours, afin que le volume de remplissage de la baratte soit d'au moins 40 %. Par exemple, l'exploitation A réalisait le barattage le mercredi après-midi avec les crèmes du dimanche soir au mercredi matin. Les exploitations trayant avec des robots de traite barattaient des crèmes de deux ou trois écrémages différents. Les fermes B et D n'écrémaient qu'une fois par jour alors qu'il arrivait aux fermes E et F de réaliser un premier écrémage tôt le matin et d'en réaliser un second plus

tard dans la journée, lorsque leur réservoir tampon était de nouveau plein. Ces mélanges de crèmes ont biaisé l'étude, étant donné que le cycle d'écémage n'a été suivi qu'une fois par barattage.

Les tableaux 13 et 14 reprennent les résultats obtenus lors de l'analyse de crème maturée. Les résultats en gras sont ceux de l'analyse des crèmes pour lesquelles l'écémage a été suivi.

Dans le tableau 13, il est observé que les crèmes maturées du samedi avaient un taux de contamination assez faible, alors qu'elle était importante dans celle du jeudi et très importante dans celles du vendredi. Le mélange de ces crèmes a donné un beurre fortement chargé en *E. coli*, ce qui est certainement dû à la haute teneur en *E. coli* dans la crème du vendredi.

Dans le tableau 14, les différents taux de contamination sont également visibles, mais comme la variation entre elles est plus faible, la qualité du beurre est moins impactée. Lors de la deuxième visite, les taux les plus hauts étaient détectés le soir alors que l'équipement d'écémage avait été lavé complètement avant utilisation. Lors de la troisième visite, par contre, les crèmes maturées avec une contamination en *E. coli* plus importante étaient systématiquement celles du matin, ce qui paraît plus logique compte tenu du plan de nettoyage de cette exploitation.

Tableau 13 : Résultats détaillés de l'analyse de la crème maturée lors de la première visite à la ferme F.

Ferme F - Visite 1	<i>E. coli</i> (UFC/g)	Colif. tot. (UFC/g)
Samedi	<b>20</b>	<b>30</b>
Samedi	<b>50</b>	<b>230</b>
Vendredi	>15000	>15000
Vendredi	>15000	>15000
Jeudi	2910	2920
Moyenne beurre	1336	1364

Tableau 14 : Résultats détaillés de l'analyse de la crème maturée lors des visites 2 et 3 à la ferme A.

Ferme A	Visite 2		Visite 3	
	<i>E. coli</i> (UFC/g)	Colif. tot. (UFC/g)	<i>E. coli</i> (UFC/g)	Colif. tot. (UFC/g)
Mercredi matin	0	130	230	1040
Mardi soir	730	8730	20	150
Mardi matin	40	2090	90	190
Lundi soir	420	720	<b>60</b>	<b>160</b>
Lundi matin	<b>50</b>	<b>70</b>	100	500
Dimanche soir	10	130	0	60
Moyenne beurre	8	48	12	74

Si les producteurs mélangent différentes crèmes pour le barattage, il faudrait que toutes les crèmes maturées soient de qualité satisfaisante pour qu'il n'y ait pas d'impact négatif sur la qualité du beurre produit.

## VI. Pistes d'amélioration pour les producteurs

Sur base des problèmes identifiés au cours de l'étude exposée dans ce travail, les solutions à apporter pour réduire au maximum le risque de contamination en *E. coli* semblent se concentrer sur le nettoyage de l'équipement, le temps d'attente du lait entier avant l'écémage et l'utilisation de ferments lactiques. Il faut cependant souligner que l'étude n'a pas été réalisée à grande échelle et que d'autres pistes pourraient exister.

### A. Nettoyage

Les prélèvements de surfaces ont montré que même après nettoyage, beaucoup de surfaces restaient encore contaminées. Pour éviter la présence de bactéries sur les surfaces, il faut que tout le matériel, et particulièrement celui qui est en contact avec le produit laitier, soit propre. Le nettoyage doit être fait méticuleusement et aucune étape ne peut être omise, quel que soit le moment où le nettoyage est effectué.

L'étude a pu montrer que deux points en particulier étaient plus sujets à des contaminations : l'arrivée du lait en provenance de l'équipement de traite et l'orifice de passage du lait entier vers l'écémuse. Comme le conduit d'arrivée du lait est lavé avec l'équipement de traite et de façon automatisée, il serait intéressant de vérifier que toutes les conditions nécessaires à un lavage correct sont remplies : température de l'eau utilisée (au moins 40 °C en fin de cycle de lavage)<sup>54</sup>, utilisation au dosage approprié de détergent (ou éventuellement de biocide) qui doit être non corrosif afin d'éviter que des biofilms ne se forment sur les surfaces abîmées, respect de toutes les étapes du nettoyage et de leur durée préconisée, présence d'une turbulence, etc. Si l'exploitation trait à l'aide d'un robot, équipement dans lequel le trajet du lait est plus complexe, un lavage à l'eau chaude acidifiée (95-98°C) peut être réalisé afin de désinfecter l'équipement de traite<sup>54</sup>.

En ce qui concerne l'écémuse, lors du lavage, que ce soit à la main ou au lave-vaisselle, il faut s'assurer particulièrement que les pièces étroites et/ou coudées, comme l'orifice de passage du lait entier vers l'écémuse, soient bien nettoyées. Si ces parties peuvent être fermées, il faut veiller à ce qu'elles soient lavées en position ouverte afin que l'eau puisse passer dans tout le conduit et s'écouler. Il est également important que l'eau ne stagne pas. L'équipement doit en outre être complètement sec.

### B. Diminution du temps d'attente avant l'écémage

Un effet sur la qualité microbiologique du lait entier dû au type d'équipement de traite utilisé a été détecté au cours de cette étude. La différence fondamentale entre l'équipement de salle de traite et les robots, est le temps d'attente du lait non refroidi avant l'écémage. En effet, dans les fermes utilisant des robots de traite, le lait entier non refroidi peut séjourner dans le réservoir tampon pendant, parfois, plus de 3 heures, alors que la FAO stipule dans son code d'usage CAC/RCP 57-2004<sup>8</sup> que le lait doit être refroidi à une température maximale de 6°C (4°C dans certains cas particuliers) s'il n'est pas utilisé dans les deux heures suivant la traite, afin de prévenir le risque de développement de bactéries. D'ailleurs, le Règlement (CE) n°853/2004<sup>55</sup> impose que le lait soit refroidi et maintenu à une température maximale de 6° jusqu'à sa transformation.

La qualité microbiologique du lait obtenu par les robots pourrait être améliorée en envoyant le lait directement dans le tank où il est refroidi ou dans un réservoir tampon où il serait également refroidi contrairement à ce qui se passe habituellement. Le lait serait alors réchauffé par la suite à 30-35°C au moment de l'écémer. Il faudrait néanmoins être attentif aux conditions dans lesquelles le lait est réchauffé afin de ne pas en altérer les propriétés. L'ajout de cette étape entraînerait cependant une

charge de travail supplémentaire pour les producteurs ainsi que des coûts énergétiques additionnels dus au réchauffage du lait.

#### C. Utilisation de ferments lactiques

L'ajout de ferments lactiques dans la crème durant l'étape de maturation permet de concurrencer le développement d'*E. coli*. En acidifiant la crème, les bactéries lactiques rendent le milieu moins propice au développement d'*E. coli*.

La ferme C qui a été la seule à ne pas employer de ferments tout au long de l'étude, atteint des niveaux en *E. coli* très élevés après l'étape de maturation alors que les produits laitiers initiaux étaient exempts de ces bactéries ou très peu contaminés. La solution pour améliorer la qualité microbiologique du beurre de la ferme C pourrait être d'ensemencer la crème maturée et de limiter ainsi la croissance des *E. coli*. Cependant l'utilisation de ferments a un effet sur la saveur du beurre. Des ferments commerciaux largement utilisés entraîneraient une perte de la typicité du beurre produit par cette ferme. En outre, l'achat des ferments génèrerait un surcoût à la production du beurre.

L'Annexe 5 présente l'arbre décisionnel guidant le producteur confronté à une contamination en *E. coli* dans la recherche de solutions.

#### D. Exemple pratique dans une exploitation

Une ferme G, également productrice de beurre au lait cru réalisait ses analyses d'autocontrôle par le biais de DiversiFerm. La ferme G était équipée d'un robot de traite. Cette exploitation n'avait pas été incluse dans l'étude, car elle n'a jamais eu de problème de contamination en *E. coli* dans le beurre qu'elle produit depuis maintenant trois ans. Le beurre répond au critère d'acceptabilité ( $\leq 10$  UFC d'*E. coli*/g)<sup>2</sup>.

Cette ferme a fait le choix de refroidir directement son lait et de le réchauffer quelques heures après pour l'écémage. Le refroidissement et le réchauffage se font au moyen d'échangeurs thermiques afin de ne pas détériorer les propriétés du lait. Il faut cependant noter que cette exploitation utilise également des ferments PAL 122 (Laboratoires Standa, Caen, France) pour l'ensemencement de la crème. La composition de ce ferment<sup>56</sup>, *L. lactis* subsp. *lactis*, *L. lactis* subsp. *cremoris*, *L. lactis* subsp. *lactis* biovar. Diacetylactis, est similaire à celle des ferments MA 4001 et 4002<sup>50,51</sup> à l'exception du *S. thermophilus* qui n'est pas présent. Pour rappel, une étude<sup>53</sup> avait montré que *L. lactis* subsp. *lactis* avait un effet inhibiteur plus important que les sous-espèces *cremoris* et *lactis* biovar. Diacetylactis contre *E. coli*. La combinaison du refroidissement du lait entier et l'ajout de ferments semble bénéfique pour la bonne qualité microbiologique en *E. coli* du beurre. Il est cependant difficile d'identifier lequel des deux facteurs aurait un rôle prédominant. Pour ce faire, il y aurait lieu de tester dans les mêmes conditions les facteurs individuellement.

Les pistes de solutions mentionnées sont basées sur des hypothèses quant aux causes de la contamination en *E. coli* dans les beurres produits en fonction des résultats obtenus dans cette étude. Une étude future devra confirmer ces hypothèses en étudiant chaque facteur individuellement.

---

<sup>2</sup> Information provenant de la base de données interne de DiversiFerm

## VII. Conclusion et perspectives

L'objectif de cette étude était de mettre en évidence les sources d'une contamination en *E. coli* dans du beurre au lait cru ainsi que d'étudier le développement de cette bactérie au cours du processus de fabrication du beurre.

Pour cette étude, trois cycles de production de beurre au lait cru ont été suivis dans six fermes wallonnes productrices afin d'identifier des causes de la contamination en *E. coli* à laquelle ces fermes faisaient face de manière récurrente.

Des prélèvements de surfaces et de produits laitiers ont été effectués et les échantillons ont été analysés par dénombrement des colonies de bactéries (*E. coli* et coliformes) mises en culture sur des Petrifilms REC.

En ce qui concerne l'équipement de production, les analyses ont pu mettre en évidence deux points critiques de contamination : le tuyau d'arrivée du lait entier et l'orifice de passage du lait entier vers l'écumeuse. La propreté des surfaces est donc essentielle et nécessite un nettoyage méticuleux avec une attention particulière apportée aux deux points critiques mentionnés.

D'autre part, l'étude a essayé d'établir les facteurs pouvant avoir un effet sur la contamination en *E. coli* des produits laitiers. Un lien entre la qualité microbiologique en *E. coli* du lait entier utilisé et celles de la crème maturée et du beurre produit a pu être démontré. Les facteurs ayant un impact sur la qualité du lait sont le type d'équipement de traite utilisé (salle ou robot de traite) et la propreté du conduit de sortie du lait entier. En effet, les producteurs suivis dans cette étude qui utilisent des robots de traite dévient le lait entier non refroidi dans le réservoir tampon pendant plusieurs heures. Ce temps d'attente est lié au fait que le robot ne traite qu'une vache à la fois. Un certain temps s'écoule donc avant que le volume désiré pour l'écumage ne soit collecté, permettant le développement d'*E. coli* dans le lait chaud.

En outre, un impact bénéfique de l'utilisation de ferments pour la maturation de la crème a pu être identifié. L'ensemencement de la crème avec des bactéries lactiques entraîne une compétition avec les *E. coli* ainsi que l'acidification du milieu. Ceci limite la prolifération des *E. coli*.

Enfin, la pratique de certains producteurs consistant à mélanger différents lots de crème maturée pour un même barattage semble également influencer la qualité microbiologique du produit final. En effet, il suffit d'un lot de crème maturée avec un haut taux de contamination en *E. coli* pour affecter le beurre produit.

La présente étude a été réalisée sur une durée assez courte, avec un budget limité et à petite échelle, ce qui n'a permis de suivre qu'un nombre restreint de cycles de fabrication. Il reste donc de nombreux éléments à investiguer.

Dans une étude future, il y aurait lieu de suivre un plus grand nombre d'exploitations, et particulièrement d'y inclure des exploitations dont les beurres répondent aux normes du Règlement (CE) 2073/2005<sup>31</sup> et aux exigences de l'AFSCA<sup>11</sup>. En effet, la comparaison de l'analyse des prélèvements dans ces exploitations avec ceux d'exploitations dont les beurres ne satisfont pas aux critères du règlement européen permettrait sans doute d'identifier de manière plus précise les facteurs déterminants menant à la contamination en *E. coli* dans le beurre.

Afin d'identifier clairement les origines d'une contamination dans le beurre, il serait nécessaire d'échantillonner tous les écummings. En effet, au moment du barattage, certains producteurs procèdent à des mélanges de crèmes maturées provenant d'écummings différents et de temps de

maturation variables afin d'atteindre le volume minimal requis dans la baratte pour un barattage efficace. Il est donc difficile de corrélérer avec certitude les résultats obtenus lors de l'analyse du beurre avec ceux d'un seul écrémage, puisque les autres écrémages pourraient également avoir influencé la qualité microbiologique en *E. coli* du beurre.

En outre, puisque les saisons ont une influence sur le niveau de contamination en coliformes dans le lait, et donc en *E. coli* comme montré plus haut au chapitre V, section B.1, il serait utile de suivre les exploitations au cours d'une année entière pour permettre d'isoler ce facteur. Il faut cependant noter ici qu'au moins deux éléments pourraient entrer en ligne de compte dans les variations des contaminations saisonnières, à savoir les conditions météorologiques (température) et l'alimentation du bétail.

La présente étude s'est concentrée sur les contaminations au cours du processus de transformation du lait cru en beurre. Le taux d'*E. coli* dans le lait entier a clairement un impact significatif sur la qualité microbiologique du beurre. Il serait donc utile d'investiguer également de possibles contaminations, qu'elles soient endogènes ou exogènes, en amont de la transformation, à savoir avant la traite (mammites), ou au moment de celle-ci (trayons et manchons, lactoduc, etc.). Les prélèvements de lait entier de l'étude exposée dans ce travail ont en effet été pris à la sortie du lactoduc.

Pour que l'étude s'effectue dans des conditions optimales statistiquement parlant, il faudrait bien évidemment toujours pouvoir appliquer un même protocole de production standardisé, énonçant clairement les modalités du test, et ne modifier les paramètres qu'un à un. On pourrait par exemple fixer les conditions de maturation (température et durée), la procédure de nettoyage (moment, type de détergent, température de l'eau, etc.). Ceci est difficilement réalisable en pratique sur le terrain puisque les conditions dans les différentes exploitations – voire au sein d'une même exploitation – sont variables.

Si l'effet des ferments était étudié, il faudrait faire murer la crème d'une seule et même traite ou d'un même écrémage (dans le cas de la traite robotisée) dans différents contenants de caractéristiques identiques. La crème de chaque contenant seraitensemencée avec une variété différente des ferments à étudier. Afin de constituer le lot de contrôle, la crème de l'un des contenants ne serait toutefois pasensemencée. Ceci requerrait néanmoins un volume important de crème puisque l'efficacité du barattage dépend du volume de crème dans la baratte.

La propreté de l'équipement de fabrication et la présence de biofilms dans les conduits pourraient être testées en utilisant une méthode d'application relativement simple. Celle-ci consisterait à faire passer du lait UHT dans l'équipement et à mesurer une potentielle contamination en *E. coli* à la sortie<sup>2</sup>. La présence de bactéries permettrait ainsi d'identifier un problème dû à l'hygiène de l'équipement.

Dans les exploitations utilisant un robot de traite, il faudrait tester si le refroidissement rapide du lait et le réchauffage au moment de l'écrémage auraient un impact bénéfique sur la qualité microbiologique du lait entier par comparaison à celle du lait mis en attente sans refroidissement.

Il ressort donc que de nombreuses recherches peuvent encore être menées afin de comprendre l'origine et les facteurs de développement d'*E. coli* dans le beurre au lait cru.

## VIII. Bibliographie

- (1) DiversiFERM, Votre conseiller en diversification en Belgique <https://www.diversiferm.be/> (accessed 2021 -05 -31).
- (2) Drain, J. Aged Butter part 1: background and basics – Nordic Food Lab Archive <https://nordicfoodlab.wordpress.com/2016/01/21/2016-1-21-aged-butter-part-1-background-and-basics/> (accessed 2021 -03 -19).
- (3) Dairy Research and Information Center (DRINC). General Butter Information <https://drinc.ucdavis.edu/dairy-foods/general-butter-information> (accessed 2021 -03 -26).
- (4) FAO. *NORME CODEX POUR LE BEURRE - CODEX STAN 279-1971*; 2018.
- (5) Ministère Agriculture, S. P. et E. *Arrêté Royal Du 6 Mai 1988 Relatif Au Beurre et Aux Produits de Beurre (MB 1988 06 03)*; 2012; pp 8087–8087.
- (6) EL-HAJJAJI, S.; GERARD, A.; de LAUBIER, J.; di TANNA, S.; LAINE, A.; PATZ, V.; SINDIC, M. Overview of the Local Production Process of Raw Milkbutter in Wallonia (Belgium). *International Journal of Dairy Technology* **2019**, 72 (3), 466–471.
- (7) FAO. *NORME GÉNÉRALE CODEX POUR L'UTILISATION DE TERMES DE LAITERIE - CODEX STAN 206-1999*; 1999.
- (8) FAO. *Code d'usages En Matière d'Hygiène Pour Le Lait et Les Produits Laitiers - CAC/RCP 57-2004*; 2009.
- (9) Dunand, C. Production de Beurres Fermiers et Artisanaux. Partie 1 : La Matière Grasse, Une Matière Première Complexe. *Revue des Ecoles Nationales d'Industrie Laitière* **2009**, 304, 13–17.
- (10) Couvreur, S.; Hurtaud, C. Le Globule Gras Du Lait: Sécrétion, Composition, Fonctions et Facteurs de Variation. *INRA Prod. Anim.* **2007**, 20 (5), 369–382.
- (11) Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire. *Guide d'autocontrôle Pour La Production et La Vente de Produits Laitiers à La Ferme*; 2012.
- (12) FAO. *Le Lait et Les Produits Laitiers Dans La Nutrition Humaine*; FAO - Food and Agriculture Organization of the Unites Narions, Ed.; 1995.
- (13) Tetra Pak. Centrifugal separators and milk standardization | Dairy Processing Handbook <https://dairyprocessinghandbook.tetrapak.com/chapter/centrifugal-separators-and-milk-standardization> (accessed 2021 -06 -09).
- (14) Dunand, C. Production de Beurres Fermiers et Artisanaux : Partie 2:La Préparation Des Crèmes, Une Étape d'optimisation Pour La Production Du Beurre. *Revue des Ecoles Nationales d'Industrie Laitière* **2010**, 305, 16–20.
- (15) El-Hajjaji, S.; Gérard, A.; de Laubier, J.; Lainé, A.; Patz, V.; Sindic, M. Study of the Bacterial Profile of Raw Milk Butter, Made during a Challenge Test with *Listeria Monocytogenes*, Depending on Cream Maturation Temperature. *Food Microbiology* **2021**, 98, 103778. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103778>.

- (16) Ministère des Affaires sociales de la santé Publique et de l'environnement. 14 JANVIER 2002. — *Arrêté Royal Relatif à La Qualité Des Eaux Destinées à La Consommation Humaine Qui Sont Conditionnées Ou Qui Sont Utilisées Dans Les Établissements Alimentaires Pour La Fabrication et/Ou La Mise Dans Le Commerce de Denrées Alimentaires*; MINISTERE DES AFFAIRES SOCIALES, DE LA SANTE PUBLIQUE ET DE L'ENVIRONNEMENT, 2002; pp 8–23.
- (17) S.Winandy, D. *Quel Avenir Pour Le Beurre de Ferme ?*; Libramont, 2014.
- (18) Verraes, C.; Vlaemynck, G.; van Weyenberg, S.; de Zutter, L.; Daube, G.; Sindic, M.; Uyttendaele, M.; Herman, L. A Review of the Microbiological Hazards of Dairy Products Made from Raw Milk. *International Dairy Journal*. 2015, pp 32–44. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2015.05.011>.
- (19) N'Guessan, É.; Godrie, T.; de Laubier, J.; di Tanna, S.; Ringuet, M.; Sindic, M. A Survey of Bacteria Found in Belgian Dairy Farm Products. *Biotechnology, Agronomy and Society and Environment* **2015**, *19* (4), 346–354.
- (20) Office fédéral de la santé publique OFSP Suisse (Division Maladies transmissibles). Escherichia coli entérohémorragique <https://www.bag.admin.ch/bag/fr/home/krankheiten/krankheiten-im-ueberblick/ehec.html> (accessed 2021 -05 -17).
- (21) Herman, L.; Daube, G.; Zutter, L. de; Sindic, M.; Vlaemynck(ILVO), G. *AVIS 02-2015 : Evaluation Des Risques Microbiologiques de La Consommation Des Produits Laitiers à Base de Lait Cru*; 2015.
- (22) Raynaud, S.; Barral, J.; Morge, S. *Guide Sanitaire En Production Laitière Fermière : Escherichia Coli Dans Un Produit Laitier Fermier*; 2011.
- (23) Doğan-Halkman, H. B.; Çakir, I.; Keven, F.; Worobo, R. W.; Halkman, A. K. Relationship among Fecal Coliforms and Escherichia Coli in Various Foods. *European Food Research and Technology* **2003**, *216* (4), 331–334. <https://doi.org/10.1007/s00217-002-0647-2>.
- (24) Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec. Recherche et Dénombrement d'Escherichia Coli Thermotolérants Dans l'eau : Méthode Par Filtration Sur Membrane Utilisant Le Milieu de Culture MFC-BCIG; 2016; p 17.
- (25) BOUVET, J.; VERNZOY-ROZAND, C. Méthodes Génétiques de Détection Des Escherichia Coli Verotoxiques (VTEC) et de Escherichia Coli O157:H7 Dans Les Aliments. *Revue Méd. Vét* **2000**, *151* (10), 907–914.
- (26) BRISABOIS, A.; LAFARGE, V.; BROUILLAUD, A.; de BUYSER, M. L.; COLLETTE, C.; GARIN-BASTUJI, B.; THOREL, M. F. Les Germes Pathogènes Dans Le Lait et Les Produits Laitiers : Situation En France et En Europe. *Revue Scientifique et Technique de l'OIE* **1997**, *16* (2), 452–471. <https://doi.org/10.20506/rst.16.2.1036>.
- (27) CLAVE, D. *FICHE TECHNIQUE : Escherichia Coli*; Toulouse, 2015.
- (28) Wang, F.; Yang, Q.; Kase, J. A.; Meng, J.; Clotilde, L. M.; Lin, A.; Ge, B. Current Trends in Detecting Non-O157 Shiga Toxin-Producing Escherichia Coli in Food. *Foodborne Pathogens and Disease*. 2013, pp 665–677. <https://doi.org/10.1089/fpd.2012.1448>.
- (29) Mobergt, L. J. *Fluorogenic Assay for Rapid Detection of Escherichia Coli in Food Downloaded From*; 1985; Vol. 50.

- (30) Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire LFSAGx. *Dénombrement Des Escherichia Coli  $\beta$ -Glucuronidase Positives (44 °C)* ; 2019.
- (31) Commission Européenne. *RÈGLEMENT (CE) No 2073/2005 DE LA COMMISSION Du 15 Novembre 2005 Concernant Les Critères Microbiologiques Applicables Aux Denrées Alimentaires* ; 2005.
- (32) Belleflamme C., D. T. S. Coup d’oeil Sur La Qualité Microbiologique Du Beurre Au Lait Cru Wallon. *Le Sillon Belge* **2009**.
- (33) Sanchez-Alcaraz, T. ; Godrie, T.; Helleputte, M.; di Tanna, S.; Belleflamme, C.; Sindic, M. *Bilan Microbiologique Des Produits Laitiers Artisanaux*; 2011.
- (34) Bird, P.; Bastin, B.; Klass, N.; Crowley, E.; Agin, J.; Goins, D.; Bakken, H.; Lingle, C.; Schumacher, A. Evaluation of the 3MTM Petrifilm™ Rapid E. Coli/ Coliform Count Plate for the Enumeration of E. Coli and Coliforms: Collaborative Study, First Action: 2018.13. *Journal of AOAC International* **2021**, 103 (2), 513–522. <https://doi.org/10.1093/JAOCINT/QSZ013>.
- (35) 3M Petrifilm. Product Instructions - REC Rapid E. Coli / Coliform Count Plate Test. March 2019, pp 1–121.
- (36) ISO 6887-1. *Microbiology of the Food Chain - Preparation of Test Samples, Initial Suspension and Decimal Dilutions for Microbiological Examination*; 2017; Vol. 2.
- (37) Faille, C. ; Lamour, J.-B. ; Clarisse, M. ; Rossi, N. ; Hannequin M. ; Chene, C. Valisation Des Procédures de Nettoyage Et Désinfection. *Industries Alimentaires et Agricoles* **2004**, 38–41.
- (38) 3M Petrifilm. *Interpretation Guide - CC Coliform Count Plate*. <https://doi.org/10.1159/000362780>. Interpretation.
- (39) 3M Petrifilm. *Interpretation Guide - REC E. Coli/Coliform Count Plate*.
- (40) Minitab. Interprétation des résultats principaux pour la fonction Corrélation - Minitab <https://support.minitab.com/fr-fr/minitab/19/help-and-how-to/statistical-modeling/regression/how-to/fitted-line-plot/interpret-the-results/key-results/> (accessed 2021-06-09).
- (41) Comité du Lait (CdL). *Checklist Contaminants* ; 2020.
- (42) Comité du Lait (CdL). *Checklist Germes Totaux* ; 2020.
- (43) Comité du Lait (CdL). *PLAN D’ACTION “CONTAMINANTS”* ; 2020.
- (44) Viet Hoan, N. CONTRIBUTION À L’ÉTUDE DES NIVEAUX DE CONTAMINATION EN ESCHERICHIA COLI TOUT AU LONG DU PROCESS DE FABRICATION DU BEURRE DE FERME AU LAIT CRU, 2010.
- (45) Lefaux, R. ; Alais, C. ; Mocquot, G. ; Drapier, H. ; Guezennec, J. ; Lindenlaub, C. L’EMPLOI DES MATIÈRES PLASTIQUES DANS L’INDUSTRIE LAITIÈRE. *Le Lait, INRA Editions* **1965**, 45 (443–444), 154–162.
- (46) Aparna Sudhakaran, V.; Minj, J. Basic Facts about Dairy Processing and Technologies. In *Dairy Processing: Advanced Research to Applications*; Springer Singapore, 2020; pp 1–24. [https://doi.org/10.1007/978-981-15-2608-4\\_1](https://doi.org/10.1007/978-981-15-2608-4_1).
- (47) Comité du Lait (CdL). *Rapport d’activité de l’année 2020* ; 2021.

- (48) Denis, B. ; Rossel, P. ; BOUCHIER, J.-L. ; POULET, S. ; COURTOT, L. ; FONT, S. ; FULBERT, L. ; HEDON, L. ; PICANT, P. ; THIERRY, T. ; BALLOT, N. *Démarche d ' Intervention Sur La Qualité Microbiologique Du Lait Dans Une Exploitation Avec Robot(s) de Traite* ; 2020.
- (49) Renard, J. *À Propos Du Lait Cru* ; 2014.
- (50) Danisco. Product Description - PD 206693-6.0FR Choozit <sup>TM</sup> MA 4001 Lyo 5 Dcu. 1–2.
- (51) Danisco. Product Description - Pd 206520-4. 0Fr Choozit <sup>TM</sup> MA 4002 LYO 5 DCU. 1–2.
- (52) Hansen, C. *FLORA DANICA Information Produit* ; 2018.
- (53) Metlef, S. ; Dilmi-Bouras, A. Effet Antagoniste de Lactococcus Lactis, Souches Extrêmophiles Locales, Sur Des Espèces de La Flore Intestinale Résidente. *Revue Nature et Technologie* **2009**, *1*, 33–44.
- (54) Benoist, D. *Nettoyer Efficacement Son Installation de Traite* ; 2016.
- (55) Commission Européenne. *RÈGLEMENT (CE) No 853/2004 DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL Du 29 Avril 2004 Fixant Des Règles Spécifiques d'hygiène Applicables Aux Denrées Alimentaires d'origine Animale* ; 2004.
- (56) Laboratoires Standa. *Pal* <sup>®</sup> 122 D ; 2018.

## IX. Annexes

Annexe 1: Photo d'une baratte horizontale en bois semblable à celle de la ferme C



Source : Faille, C., Lamour, J.-B., Clarisse, M., Rossi, N., Hannequin Magali, & Chene, C. (2004). Validation des procédures de nettoyage et désinfection. *Industries Alimentaires et Agricoles*, 38–41. [http://www.actalia.eu/wp-content/uploads/2014/08/IAA\\_Mai-Juin2014\\_p38-41.pdf](http://www.actalia.eu/wp-content/uploads/2014/08/IAA_Mai-Juin2014_p38-41.pdf)

Annexe 2: ANOVA à un facteur contrôlé : UFC *E. coli* en fonction de Revêtement baratte

### Méthode

Hypothèse nulle	Toutes les moyennes sont égales
Hypothèse alternative	Toutes les moyennes ne sont pas égales
Seuil de signification	$\alpha = 0,05$

*Les variances ont été supposées égales pour l'analyse.*

### Informations sur les facteurs

Facteur	Niveaux	Valeurs
Revêtement baratte	2	Bois; Inox

### Analyse de la variance

Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
Revêtement baratte	1	15,57	15,57	1,00	0,322
Erreur	52	809,85	15,57		
Total	53	825,43			

Annexe 3: Résultats détaillés des prélèvements de surfaces

Ferme	Visite	Répétition	Arrivé du lait avant l'écémage		Passage vers l'écémuse		Écémuse		Réceptier de maturation		Baratte		
			UFC d'E. coli	UFC de colif tot	UFC d'E. coli	UFC de colif tot	UFC d'E. coli	UFC de colif tot	UFC d'E. coli	UFC de colif tot	UFC d'E. coli	UFC de colif tot	
A	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
		3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	2	1	8	0	0	22	2	> 15000	0	0	0	0	0
		2	3	> 15000	0	0	0	> 15000	0	0	0	0	0
		3	0	> 15000	0	0	0	> 15000	0	0	0	0	0
	3	1	4	5	2	> 15000	18	1020	0	0	0	0	0
		2	0	4	52	> 15000	0	181	0	0	0	0	0
		3	0	26	182	> 15000	0	0	0	2	0	0	0
B	1	1	2	270	4	0	5	0	0	0	0	0	
		2	1	101	1	0	0	0	21	0	0	0	
		3	3	178	67	0	0	0	9	0	0	0	
	2	1	0	3	0	> 15000	0	3	0	1	0	0	
		2	0	5	7	> 15000	0	1	0	0	0	0	
		3	0	0	44	> 15000	0	1	1	39	0	0	
	3	1	0	0	> 15000	> 15000	7	0	33	5	0	0	
		2	> 15000	> 15000	> 15000	> 15000	0	0	0	3	0	0	
		3	0	0	> 15000	> 15000	> 15000	> 15000	0	0	0	0	
C	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	29	> 15000	
		2	0	0	0	0	0	0	> 15000	0	0	0	
		3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	2	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
		2	0	14	0	0	0	2	0	0	0	0	
		3	0	29	0	2	0	0	0	0	0	0	
	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Ferme	Visite	Répétition	Arrivé du lait avant l'écémage		Passage vers l'écémuse		Écémuse		Récipient de maturation		Baratte	
			UFC d'E. coli	UFC de colif tot	UFC d'E. coli	UFC de colif tot	UFC d'E. coli	UFC de colif tot	UFC d'E. coli	UFC de colif tot	UFC d'E. coli	UFC de colif tot
D	1	1	13	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		3	63	4	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		2	316	2	0	0	0	1	0	0	0	0
		3	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	3	1	> 15000	> 15000	0	0	31	38	0	0	0	0
		2	> 15000	> 15000	0	0	0	0	0	0	0	0
		3	121	11	> 15000	> 15000	0	0	0	0	0	1
E	1	1	0	2	0	1	0	0	0	1	0	0
		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		3	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		3	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0
	3	1	> 15000	> 15000	0	0	0	0	0	0	0	0
		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
F	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		2	0	12	0	0	0	0	0	0	0	0
		3	0	0	0	> 15000	0	0	0	0	0	0
	2	1	0	15	0	2	0	0	0	0	0	2
		2	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0
		3	1	27	0	0	0	11	0	0	0	0
	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		3	0	0	0	0	3	1	0	0	0	0

Annexe 4 : Résultats détaillés des échantillons de produits laitiers

Ferme	Visite	Répétition	Lait entier		Lait écrémé		Crème		Crème maturée		Beurre	
			UFC d'E. coli/mL	UFC de colif tot/mL	UFC d'E. coli/mL	UFC de colif tot/mL	UFC d'E. coli/g	UFC de colif tot/g	UFC d'E. coli/g	UFC de colif tot/g	UFC d'E. coli/g	UFC de colif tot/g
A	1	1	0	0	0	0	0	0	100	2380	10	40
		2	0	0	0	0	0	0	30	130	10	60
		3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10
		4	0	0	0	0	0	110	50	70	20	90
		5	0	0	0	0	0	0	510	750	10	60
	2	1	0	0	0	10	0	0	0	130	30	80
		2	0	0	0	0	0	80	730	8730	10	70
		3	0	0	0	0	0	130	40	2090	0	60
		4	0	0	0	10	0	130	420	720	0	30
		5	10	10	0	0	0	80	50	70	0	0
		6							10	130		
	3	1	0	0	0	80	10	430	230	1040	0	80
		2	20	20	0	60	0	170	20	150	10	100
		3	0	0	0	20	0	100	90	190	10	60
		4	40	40	0	130	0	20	60	160	10	40
		5	0	130	0	40	0	0	100	500	30	90
		6							0	60		
	B	1	1	0	0	0	40	0	20	720	> 15000	310
2			0	0	0	10	0	10	1000	> 15000	310	> 15000
3			0	0	0	0	0	20	1320	> 15000	120	> 15000
4			10	10	0	0	0	10	220	> 15000	310	> 15000
5			10	10	0	10	0	10	30	> 15000	480	> 15000
2		1	0	10	10	30	10	40	260	3320	10	140
		2	0	0	0	10	0	0	290	9890	0	50
		3	0	10	10	20	0	20	10	390	0	70
		4	10	10	0	10	0	10	20	560	0	110
		5	10	10	10	40	0	0	10	370	10	120
3		1	> 15000	> 15000	150	620	660	1170	> 15000	> 15000	12600	> 15000
		2	> 15000	> 15000	> 15000	> 15000	> 15000	> 15000	> 15000	> 15000	11700	> 15000
		3	6000	12900	0	20	20	200	> 15000	> 15000	11100	> 15000
		4	0	30	> 15000	> 15000	> 15000	> 15000	> 15000	> 15000	13500	> 15000
		5	0	10	10	70	130	1140	> 15000	> 15000	12000	> 15000

Ferme	Visite	Répétition	Lait entier		Lait écrémé		Crème		Crème maturée		Beurre	
			UFC d'E. coli/mL	UFC de colif tot/mL	UFC d'E. coli/mL	UFC de colif tot/mL	UFC d'E. coli/g	UFC de colif tot/g	UFC d'E. coli/g	UFC de colif tot/g	UFC d'E. coli/g	UFC de colif tot/g
C	1	1	0	0	0	3370	0	2100	> 15000	> 15000	250	> 15000
		2	0	10	0	520	0	350	> 15000	> 15000	350	> 15000
		3	0	10	0	130	0	60	340	> 15000	240	> 15000
		4	0	0	0	20	0	20	> 15000	> 15000	300	> 15000
		5	0	0	0	0	0	0	> 15000	> 15000	280	> 15000
	2	1	0	40	0	100	0	10	> 15000	> 15000	110	> 15000
		2	0	30	0	0	0	0	> 15000	> 15000	60	> 15000
		3	0	0	0	10	0	10	> 15000	> 15000	110	> 15000
		4	0	10	0	10	0	30	> 15000	> 15000	110	> 15000
		5	0	10	0	40	0	10	> 15000	> 15000	90	> 15000
	3	1	0	30	0	140	0	130	> 15000	> 15000	420	> 15000
		2	0	10	0	20	0	40	> 15000	> 15000	430	> 15000
		3	0	30	0	0	0	10	> 15000	> 15000	450	> 15000
		4	0	10	0	0	0	0	> 15000	> 15000	460	> 15000
		5	0	10	0	0	0	10	> 15000	> 15000	520	> 15000
D	1	1	370	> 15000	40	> 15000	0	> 15000	> 15000	> 15000	7200	> 15000
		2	550	> 15000	30	> 15000	20	> 15000	> 15000	> 15000	9600	> 15000
		3	1060	> 15000	20	> 15000	10	> 15000	> 15000	> 15000	12600	> 15000
		4	210	> 15000	90	> 15000	20	> 15000	> 15000	> 15000	12300	> 15000
		5	62	> 15000	90	> 15000	30	> 15000	> 15000	> 15000	9000	> 15000
	2	1	160	640	40	740	40	> 15000	> 15000	> 15000	390	> 15000
		2	80	440	40	560	10	> 15000	> 15000	> 15000	400	> 15000
		3	100	640	80	1290	80	> 15000	> 15000	> 15000	560	> 15000
		4	990	1400	120	1590	0	> 15000	> 15000	> 15000	> 15000	> 15000
		5	120	350	> 15000	> 15000	50	> 15000	> 15000	> 15000	660	> 15000
	3	1	300	330	70	180	2490	> 15000	> 15000	> 15000	> 15000	> 15000
		2	2930	3140	30	70	30	50	> 15000	> 15000	340	> 15000
		3	570	630	> 15000	> 15000	30	120	> 15000	> 15000	> 15000	> 15000
		4	250	300	> 15000	> 15000	570	> 15000	> 15000	> 15000	5500	> 15000
		5	650	760	> 15000	> 15000	20	160	> 15000	> 15000	110	> 15000

Ferme	Visite	Répétition	Lait entier		Lait écrémé		Crème		Crème maturée		Beurre	
			UFC d'E. coli/mL	UFC de colif tot/mL	UFC d'E. coli/mL	UFC de colif tot/mL	UFC d'E. coli/g	UFC de colif tot/g	UFC d'E. coli/g	UFC de colif tot/g	UFC d'E. coli/g	UFC de colif tot/g
E	1	1	0	0	10	10	0	0	550	550	1130	1130
		2	20	20	10	10	10	10	480	480	990	1020
		3	20	20	10	10	0	0	3390	3390	1200	1200
		4	0	0	40	40	0	0	> 15000	> 15000	1450	1450
		5	40	40	10	10	0	0	> 15000	> 15000	830	830
	2	1	0	0	0	0	0	0	16800	> 15000	550	550
		2	20	80	0	0	0	0	9900	> 15000	400	410
		3	10	10	0	0	0	0	15600	> 15000	510	650
		4	0	0	4020	4410	0	0	13800	> 15000	650	390
		5	0	0	140	140	0	0	11400	> 15000	390	450
	3	1	0	0	0	0	> 15000	> 15000	> 15000	> 15000	> 15000	> 15000
		2	0	0	0	0	0	0	> 15000	> 15000	> 15000	> 15000
		3	0	0	0	0	0	0	> 15000	> 15000	> 15000	> 15000
		4	0	0	> 15000	> 15000	> 15000	> 15000	> 15000	> 15000	> 15000	> 15000
		5	0	0	> 15000	> 15000	> 15000	> 15000	> 15000	> 15000	> 15000	> 15000
F	1	1	10	1570	10	10	0	10	20	30	1510	1530
		2	0	790	0	0	0	20	50	230	1490	1490
		3	10	240	0	0	0	0	> 15000	> 15000	1170	1200
		4	0	360	10	10	0	10	> 15000	> 15000	1450	1480
		5	0	250	0	0	0	0	2910	2920	1060	1120
	2	1	0	> 15000	0	0	0	120	0	30	0	0
		2	20	> 15000	0	0	0	60	420	560	0	0
		3	10	> 15000	0	0	0	10	80	120	260	310
		4	20	> 15000	0	10	0	30	0	430	10	10
		5	0	> 15000	0	0	0	20	10	40	270	350
	3	1	0	> 15000	10	10	0	60	15600	> 15000	350	370
		2	0	> 15000	10	10	10	170	1700	1700	370	390
		3	0	> 15000	10	10	0	0	220	1520	> 15000	> 15000
		4	30	30	2570	4020	0	20	> 15000	> 15000	260	270
		5	10	10	240	590	0	0	400	2410	> 15000	> 15000

Annexe 5 : Arbre décisionnel en cas de contamination en *E. coli* dans du beurre au lait cru