

La qualité hygiénique du fromage suisse « Vacherin Mont-d'Or »

par

A. MASSON

Laboratoire cantonal, Epalinges (Suisse)

I. INTRODUCTION

Lors d'une première étude intitulée « la flore microbienne du Vacherin Mont-d'Or », parue en 1970 dans le volume 61 de la revue suisse « *Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène* », nous avons pu démontrer que ce fromage, fabriqué à partir de lait non-pasteurisé, renfermait une haute teneur en germes de différentes espèces. Parmi ceux-ci, on pouvait relever la présence d'espèces dominantes telles que : *Citrobacter freundii* et *intermedium* pour les coliformes, des microcoques du groupe II de Baird-Parker, *Saccharomyces exiguus* pour les levures, *Streptococcus faecalis*, variété *liquefaciens* pour les entérocoques.

Notre étude n'ayant porté que sur quatre échantillons, nous n'avions pas décelé la présence de staphylocoques. Malheureusement, à la suite de plaintes répétées provenant de la consommation de Vacherins ayant provoqué des intoxications alimentaires, certains échantillons contenant jusqu'à 32 ppm de toxines D/100 g de fromage, deux campagnes de recherche systématique des staphylocoques dans ces Vacherins ont été menées : la première a eu lieu du 29 octobre 1973 au 12 mars 1974 et la seconde du 6 septembre au 22 novembre 1974.

Lors de la première campagne, qui a comporté l'analyse de cinquante-quatre fromages, nous avons trouvé quinze fromages soit 27,6 p. 100) qui avaient plus de 100 staphylocoques coagulase positive, ce qui donnait en détail le tableau suivant :

— 100 à 1 000 staph/g	= 5,5 p. 100
— 1 000 à 10 000 staph/g	= 9,2 p. 100
— 10 000 à 100 000 staph/g	= 9,2 p. 100
— + de 100 000 staph/g	= 3,7 p. 100

Total	27,6 p. 100
-------	-------------

Lors de la seconde campagne, nous avons commencé par faire la recherche de staphylocoques dans les laits de mélange provenant des cinquante-deux laiteries fabriquant des Vacherins. Sur cinquante-deux laits de mélange analysés, trois laiteries accusèrent des chiffres élevés de staphylocoques, à savoir plus de 100 000 par ml. Nous avons alors procédé à l'analyse d'un échantillon moyen de lait de chacun des producteurs de ces trois laiteries. Nous avons pu détecter dans le premier cas un producteur avec plus de 2 000 staphylocoques par ml ; dans le second cas, trois producteurs avec plus de 10 000 staphylocoques par ml et dans le troisième, un producteur avec plus de 1 000 staphylocoques par ml. Lors du contrôle des fromages (en cours d'affinage), nous avons pu déceler sept fromages (soit 14 p. 100) avec plus de 1 000 000 de staphylocoques par g.

Nous avons procédé comme pour les laits de mélange à l'analyse des échantillons moyens de chacun des producteurs. Les résultats furent les suivants :

- | | |
|--|------------------------------|
| 1. Sept producteurs sur douze | avec plus de 1 000 staph/ml. |
| 2. Un producteur sur six | avec plus de 1 000 staph/ml. |
| 3. Un producteur sur huit | avec plus de 1 000 staph/ml. |
| 4. Dix-neuf producteurs sur vingt-cinq | avec plus de 1 000 staph/ml. |
| 5. Quatre producteurs sur huit | avec plus de 1 000 staph/ml. |
| 6. Trois producteurs sur huit | avec plus de 1 000 staph/ml. |
| 7. Huit producteurs sur onze | avec plus de 1 000 staph/ml. |

Pour les villages 1 et 2, nous avons analysé le lait de chacun des producteurs incriminés.

Pour le premier village, il y avait donc sept producteurs avec plus de 1 000 staphylocoques par ml. L'analyse a décelé un producteur dont le nombre de staphylocoques par ml pour ses treize vaches variait de 110 à 2 060, tandis que pour les six autres producteurs restants, le nombre variait de 10 à 590 staphylocoques par ml.

Quant au second village, pour le producteur qui dépassait 1 000 staphylocoques par ml, ses dix vaches donnaient un nombre de staphylocoques par ml compris entre 10 et 120.

En conclusion, il est difficile de se prononcer sur ces résultats qui sont fragmentaires. Cependant, on peut en tirer les enseignements suivants :

1. Il semble que l'infection staphylococcique ne soit pas due à une mammite staphylococcique car, à ce moment-là, nous devrions trouver dans le lait de la vache malade des nombres élevés de staphylocoques par ml. Il semblerait plutôt que l'infection soit due à un manque de propreté générale durant la traite, de la part du producteur.

2. Nous avons constaté, d'autre part, que l'infection staphylococcique est beaucoup plus importante durant les premiers mois de fabrication, c'est-à-dire en septembre-octobre (six Vacherins sur trente

		L ₁	L ₂	L ₃	L ₄	L ₅	V ₁	V ₂	V ₃	V ₄	V ₅	V ₆	V ₇	V ₈	V ₉	V ₁₀	V ₁₁
Coagulase		+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
DNase		+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Phosphatase		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fermentations sucrées	Arabinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Lactose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
	Mannitol	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Acétoïne		+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Hémolyse		α	$\alpha\beta$	$\alpha\beta$	-	$\alpha\beta$	$\alpha\beta$	α	$\alpha\beta$	$\alpha\beta$	$\alpha\beta$	$\alpha\beta$	$\alpha\beta$	$\alpha\beta$	$\alpha\beta$	$\alpha\beta$	$\alpha\beta$
Sérotype		← 52 260 →			I	← 52 260 →						← →					

La souche L₄ correspond, selon Bergey's Manual 8^e éd., à *Staphylococcus aureus*.

La souche V₄ correspond à *Staphylococcus epidermidis* biotype 2.

Les treize souches (L₁, L₂, L₃, L₅, V₁, V₂, V₃, V₅, V₆, V₇, V₈, V₁₀, V₁₁) correspondent à *St. epidermidis* biotype 1, bien qu'ayant une coagulase positive.

La souche V₈ correspond à *St. aureus*, bien qu'ayant le sérotype 52 260.

Nous avons complété cette étude sur ces souches irrégulières en faisant la recherche de leur potentialité à produire de l'entérotoxine staphylococcique. On sait par la littérature que plus de 50 p. 100 des souches de staphylocoques produisent une toxine thermostable de nature polypeptidique provoquant un syndrome caractéristique de nausées avec vomissements et diarrhées.

Jusqu'à présent elles ont été identifiées au nombre de six et dénommées sérologiquement : A, B, C1, C2, D, E.

Actuellement la toxine impliquée le plus souvent dans les intoxications alimentaires est l'entérotoxine A, plus rarement la B.

Jusqu'à maintenant la tentative de mettre en évidence les corrélations entre les caractères biochimiques et entérotoxines n'a pas donné de résultats probants.

En fait la plupart des staphylocoques coagulase + produisent une entérotoxine mais d'autre part des staphylocoques coagulase — peuvent aussi en produire. A l'heure actuelle le seul test sûr pour éviter des interprétations non objectives est la recherche des souches entérotoxiques.

Nous avons utilisé la méthode par immuno-diffusion modifiée par Casman que nous avons étudiée lors d'un stage dans le laboratoire du professeur Caserio de l'Université de Milan.

Cette méthode consiste à ensemencer les cultures pures de staphylocoques dans un bouillon BHI enrichi à la pancaséine contenu dans un tube de verre en forme de L.

On incube ces tubes de verre à 37° C au bain-marie agitateur pendant 24-48 h. On centrifuge les cultures à 10 000 t/mn pendant 10 mn. On élimine le culot et on transverse le surnageant dans un sac à dialyse. L'opération de dialyse se fait dans l'eau courante pendant 24 h afin d'éliminer les constituants du bouillon et ne laisser que les molécules de l'éventuelle toxine. Puis on concentre ce qui reste, dans le sac à dialyse au polyéthylène-glycol, afin de garder environ 1 ml de toxine concentrée.

A partir de cette étape on réalise les réactions de précipitation entre toxine et sérum correspondant selon la technique d'immuno-diffusion sur microslide. Nos souches ont été testées selon cette méthode et ont toutes donné des résultats négatifs, en ce qui concerne la présence des toxines A et B.

Notre étude va se poursuivre avec la recherche des toxines C1, C2, D et E.

III. CONCLUSION

Par cette étude, nous avons trouvé intéressant de signaler que dans la pratique, on ne trouve que rarement des types bien définis

de staphylocoques correspondant à la littérature et que l'on trouve beaucoup plus souvent des souches difficilement classables. Ainsi Brown et Jeffries en 1967-1968 ont isolé des souches qui, bien que produisant une coagulase, avaient les caractères biochimiques de *St. epidermidis*, ce qui est le cas pour treize de nos souches sur seize.

Résumé

Depuis octobre 1973 la section de microbiologie du laboratoire cantonal vaudois, effectue la recherche systématique des staphylocoques à coagulase positive dans les fromages du type « Vacherin Mont-d'Or ».

Pour cette recherche, nous procédons en deux étapes. Dans un premier temps, nous faisons la recherche des staphylocoques dans les laits de mélange des laiteries, et dans un second temps, la recherche des staphylocoques dans les fromages en cours d'affinage.

En 1974, 6 p. 100 des laits de mélange dépassaient 100 000 staph/ml avec un maximum de 200 000 et 14 p. 100 des fromages dépassaient le million de staph/g.

En 1975, 21 p. 100 des laits de mélange dépassaient 5 000 staph/ml avec seulement un maximum de 31 000, tandis que 6 p. 100 des fromages dépassaient le million/g.

En 1976, 20 p. 100 des laits de mélange dépassaient 1 000 staph/ml avec seulement un maximum de 5 000, aucun fromage ne dépassant le million de staph/g.

Baird Parker, en 1963, a défini la coagulase comme caractère principal du *Staphylococcus aureus*, son absence caractérisant les *Staphylococcus epidermidis*.

En 1967-1968, Brown et Jeffries isolèrent une souche qui, bien que produisant une coagulase, possédait les caractères biochimiques de *St. epidermidis*.

Un phénomène identique nous est apparu à l'occasion de l'isolement de staphylocoques, à partir de laits et de fromages, type « Vacherin Mont-d'Or ».

Les seize souches ont donné, selon Bergey's Manual, 8^e éd., les résultats suivants :

- Une souche *St. aureus*.
- Une souche *St. epidermidis* biotype 2.
- Une souche *St. aureus* avec un sérotype 52 260.
- Treize souches *St epidermidis* biotype 1 avec coagulase positive.

Il est étonnant de constater que 81 p. 100 de nos souches de staphylocoques possèdent cette anomalie.

Summary

Since October 1973, the microbiological section of « Laboratoire cantonal Vaudois » carries out the systematical research of « positive coagulase » staphylococci in swiss cheese « Vacherin Mont-d'Or ».

For this work we undertook two stages.

First we carried out the research of staphylococci in bulk milks and afterwards in the ripening cheeses.

In 1974, 6 p. 100 of bulk milks exceeded 100.000 staph/ml with a max. of 200.000 and 14 p. 100 of cheeses exceeded one million of staph/g.

In 1975, 21 p. 100 of bulk milks exceeded 5.000 staph/ml with a max. of 31.000 and only 6 p. 100 of cheeses exceeded one million/g.

En 1976, 20 p. 100 of bulk milks exceeded 1.000 staph/ml and no more cheese exceeding one million/g.

Baird Parker has defined in 1963 the coagulase as the main character of *Staphylococcus aureus*; the lack of coagulase being characteristic of *Staphylococcus epidermidis*.

In 1967-1968 Brown and Jeffries have isolated a strain that presented the biochemical characters of *Staphylococcus epidermidis* although it was producing a coagulase.

An identical phenomenon has been discovered in this laboratory upon the isolation of *Staphylococcus* from Swiss milks and various types of cheese, such as « Vacherin Mont-d'Or ».

16 investigated strains have shown the following results according to Bergey's Manual, 8 th ed.

- 1 strain = *St. aureus*.
- 1 strain = *St. epidermidis* biotype 2.
- 1 strain = *St. aureus* with serotype 52.260.
- 13 strains = *St. epidermidis*, biotype 1 with positive coagulase.

It is surprising that 81 p. 100 of our strains do present this anomaly.

Reçu pour publication en décembre 1976.