

Influence de diverses méthodes de nettoyage des machines à traire sur la « qualité de conservation » du lait cru à basse température

par

J. RICHARD*

(avec la collaboration de Chantal HOUSSU et de Christine BRAQUEHAYE)

I. INTRODUCTION

Sous la pression de contraintes économiques et sociales, les laiteries collectent de plus en plus souvent le lait de six traites. Faute d'être transformé au fur et à mesure de son arrivée à l'usine, il y est parfois stocké encore pendant 24 à 48 h ; 4 à 5 j peuvent donc s'écouler entre la première traite et l'utilisation du lait cru à l'usine.

Ces conditions sont, on le sait, très favorables à une prolifération de la flore psychrotrophe. On s'attend logiquement à ce que cette multiplication soit d'autant plus importante que le niveau de contamination microbienne initiale du lait est plus élevé ; c'est pourquoi on tend à le réduire au maximum, en particulier, en cherchant des méthodes de nettoyage de la vaisselle laitière de plus en plus efficaces.

Cependant, des procédés moins performants mais nettement plus économiques peuvent donner des résultats satisfaisants eu égard à la norme proposée par Thomas et Thomas [28] pour la flore psychrotrophe : moins de 10 000 micro-organismes/ml de lait, après 48 h de conservation à basse température. Il en est peut-être tout autrement si le lait est conservé plus longtemps. C'est ce que nous avons cherché à voir. En même temps, nous avons voulu évaluer diverses techniques d'examen bactériologique du lait en vue

* Laboratoire de Microbiologie Laitière et Génie Alimentaire, I.N.R.A. - 78350 Jouy-en-Josas (France).

de retenir celle qui permet la meilleure estimation de la « qualité de conservation » du lait cru à basse température, c'est-à-dire son aptitude à être stocké longtemps au froid sans dégradation perceptible de ses composants : en d'autres termes, sans que sa population microbienne dépasse 10^6 cellules/ml [11, 16, 19].

II. METHODES

1. Nettoyage du matériel de traite

L'étude a été réalisée de 1976 à 1978 dans trente-trois fermes réparties en trois régions de France. Ces fermes étaient équipées d'installations de traite à transfert et de tanks réfrigérants. Le matériel de traite était nettoyé selon une des méthodes suivantes :

a) *Méthode classique* (huit fermes) : Après chaque traite, on faisait circuler pendant 10 min une solution chaude (50 à 60° C) d'un détergent alcalin chloré (80 à 100 mg/l de chlore titrable), un rinçage de l'installation à l'eau froide intervenait avant et après cette opération.

b) *Méthode classique avec alternance de produits* (cinq fermes) : Le nettoyage classique décrit précédemment était appliqué avec, une fois sur deux, l'utilisation d'un détergent acide.

c) *Méthode à l'eau chaude acidifiée* (huit fermes) : Après chaque traite, on traitait l'installation de traite de la façon décrite par Clough *et al.* [3].

d) *Méthodes simplifiées* (six fermes) : On effectuait après la traite du matin un nettoyage classique ou à l'eau chaude acidifiée, et, pour des raisons d'économie, après la traite du soir, on se contentait d'un simple rinçage de l'installation à l'eau pure ou à l'eau additionnée d'un produit désinfectant.

e) *Méthode à froid* (six fermes) : Après chaque traite on faisait circuler pendant 5 à 10 min une solution froide d'iodophore non moussant, préparée une fois par jour [21]. Cette solution restait, entre les traites, au contact du matériel. L'installation était rincée à l'eau froide avant et après ce nettoyage.

Dans la plupart des exploitations pratiquant la méthode classique ou ses variantes (alternance de produits ou rinçage à froid le soir), ces opérations étaient réalisées par programmeur.

Dans toutes les fermes, le nettoyage des tanks réfrigérants était effectué de diverses manières : par brossage avec une solution alcaline chlorée chaude ou à l'aide d'un programmeur utilisant des solutions chaudes ou froides de produits détergents ; dans certaines de celles qui pratiquaient le traitement à l'eau chaude acidifiée, on récupérait cette dernière à 75-76° C à la sortie de la machine à traire pour nettoyer le tank.

2. Prélèvement et conservation des échantillons

Dans chaque ferme, on a effectué jusqu'à trois reprises un prélèvement de lait dans le tank (mélange habituel de deux traites) ; dans quelques-unes d'entre elles, on a effectué parallèlement, un prélèvement au cours de la traite, à la sortie de la machine à traire.

Les échantillons étaient refroidis immédiatement à 0° C, et maintenus à cette température pendant au maximum 24 h. Ils étaient ensuite soumis à une analyse microbiologique tandis qu'une part aliquote était conservée 4 j au bain-marie entre 4 et 5° C.

3. Dénombrements microbiens

On a effectué, sur le lait avant et après conservation pendant 4 j à 5° C, les dénombrements suivants :

— flore totale (FT) sur PCA (Plate Count Agar, Difco 479) après 3 j d'incubation à 30° C ;

— flore psychrotrophe (FP) sur PCA, incubation 10 j à 7° C ;

— flore pénicillino-résistante totale (FTR) sur PCA additionné de 100 UI/ml de pénicilline G après 3 j d'incubation à 30° C ; en outre, on a dénombré, sur ce milieu pénicilliné, les colonies à oxydase positive suivant la technique rapide de Gaby et Hadley [5] recommandée par Hankin *et al.* [8].

A peu près au milieu de l'étude, nous avons introduit le dénombrement de la flore pénicillino-résistante psychrotrophe (FPR) initiale (avant conservation du lait) sur NA (Nutrient Agar, Difco 1) additionné de 100 UI/ml de pénicilline, après une incubation de 10 j à 7° C. Nous avons également effectué une numération des bactéries psychrotrophes du lait après conservation sur ce milieu sans pénicilline.

Pour les trente-neuf premiers échantillons de l'étude, on a utilisé une méthode conventionnelle de dénombrement : agitation « standard » du lait, dilutions décimales et incorporation de l'inoculum dans la gélose [1]. Les dilutions ont été réalisées en solution de Ringer diluée au quart ; les suivants ont étéensemencés en surface par la méthode spirale* [6], après 30 s de traitement de lait à l'aide d'une turbine tournant à 20 000 tours par min [22]. On a conservé la méthode conventionnelle d'ensemencement pour les échantillons contenant moins de 1 000 micro-organismes/ml. Pour déterminer l'influence du changement de mode d'agitation sur les résultats des dénombrements microbiens, vingt échantillons de diverses origines, conservés 4 j à 4-5° C, ont été examinés après avoir subi l'agitation « standard » et l'agitation à l'aide de la turbine. Aucune

* Appareil Spiral System Marketing, Ltd.

différence significative ($P < 0,05$) dans les nombres de micro-organismes psychrotrophes n'a été trouvée entre les deux modes d'agitation contrairement à ce qu'ont observé Te Whaiti et Fryer [26].

D'autre part, d'après Gilchrist *et al.* [6], Peeler *et al.* [17] et Jarvis *et al.* [9], l'ensemencement en surface sur une spirale ne donne pas de résultats significativement différents de ceux obtenus par la méthode conventionnelle, bien que Punch et Olson [18] aient signalé que l'ensemencement en surface permette aux bactéries psychrotrophes de mieux se développer que lorsqu'elles sont incorporées dans la masse de la gélose, ce que nous confirmons.

On peut donc admettre que le changement de technique de dénombrement microbien intervenu au cours de notre étude n'affecte pas significativement les résultats obtenus.

4. Caractérisation primaire de la flore

La flore psychrotrophe du lait avant et après conservation 4 j à 4-5° C a été caractérisée de la manière suivante : A partir d'une trentaine d'échantillons de diverses origines, vingt-cinq colonies par boîtes de Petri ont été prélevées au hasard et transplantées sans purification préalable, sur des milieux appropriés pour mettre en évidence les caractères suivants des micro-organismes :

— culture en présence de pénicilline G (100 UI/ml) sur NA, après 48 h d'incubation à 30° C ;

— culture de 18 à 24 h à 30° C sur milieu VRB (Violet Red Bile Agar, Difco 12) et acidification de ce milieu ;

— culture sur PCA après 10 j à 2° C et à 5° C et après 48 h à 41° C ;

— présence d'une cytochrome-oxydase mise en évidence suivant la technique rapide de Gaby et Hadley [5] ;

— synthèse d'un pigment fluorescent diffusible sur milieu F de Difco, avec examen des colonies en lumière U.V. (350 nm), après 24 à 48 h de culture à 30° C ;

— synthèse d'un pigment jaune non diffusible sur NA, après 3 à 5 j d'incubation à 30° C ;

— hydrolyse de la gélatine après 36 h de culture à 30° C sur PCA additionné de 2 p. 100 de gélatine. L'hydrolyse est révélée à l'aide d'une solution de chlorure mercurique en milieu chlorhydrique (méthode de Frazier) ;

— hydrolyse de la tributyrine en 2 et 5 j de culture sur milieu PCA additionné de 1 p. 100 de tributyrine. Ce composé est préalablement émulsionné dans un volume égal d'eau distillée contenant 1 p. 100 d'un détergent non ionique (Triton \times 100) ; après une agitation vigoureuse, le mélange est stérilisé à l'autoclave.

Ces critères ont été choisis de façon à classer provisoirement les micro-organismes dans les groupes définis en prenant pour modèle les genres psychrotrophes les plus souvent rencontrés dans le lait : *Pseudomonas*, *Acinetobacter* et *Alcaligenes* (anciennement « *Achromobacter* »), *Flavobacterium* ou *Cytophaga*, *Enterobacter* [13, 28, 30]. La séparation des trois espèces de *Pseudomonas* fluorescents (*P. fluorescens*, *P. putida*, *P. aeruginosa*) sur la base de l'hydrolyse de la gélatine et de la culture à 41° C devait être également possible [4].

Les tests ont été réalisés à l'aide d'un appareil de transfert automatique (Multipoint Inoculator, Denley, Grande-Bretagne) et des boîtes de Petri carrées de 8 cm de côté. Chaque boîte contenait 35 ml de milieu et était inoculée en surface avec vingt-cinq souches.

III. RESULTATS

Le tableau 1 montre les résultats moyens des dénombrements microbiens effectués sur le lait de tank (mélange de deux traites) de diverses origines, avant et après conservation des échantillons 4 j à 4-5° C. On observe qu'après stockage le lait contient en moyenne, dans 4 cas sur 5, plus de 1 million de micro-organismes psychrotrophes par ml bien qu'en moyenne il renferme initialement moins de 10 000 de ces micro-organismes par ml. Il n'apparaît pas non plus de relation nette entre la teneur initiale en micro-organismes psychrotrophes ou totaux et le niveau de la flore après conservation.

TABLEAU 1

Moyenne logarithmique du nombre de micro-organismes dans le lait cru
(mélange de deux traites refroidies à 4° C)
avant et après conservation complémentaire 4 j à 4-5° C

Méthode de nettoyage	Nombre d'éch.	Flore totale initiale × 10 ³	Flore psychrotrophe	
			initiale × 10 ³	finale × 10 ³
Classique	20	19	2,1	500
Eau chaude acidifiée	10	42	3,8	10 000
Classique avec alternance	8	170	5,8	16 000
Simplifiée	7	100	7,2	22 000
A froid	12	28	7,7	1 600

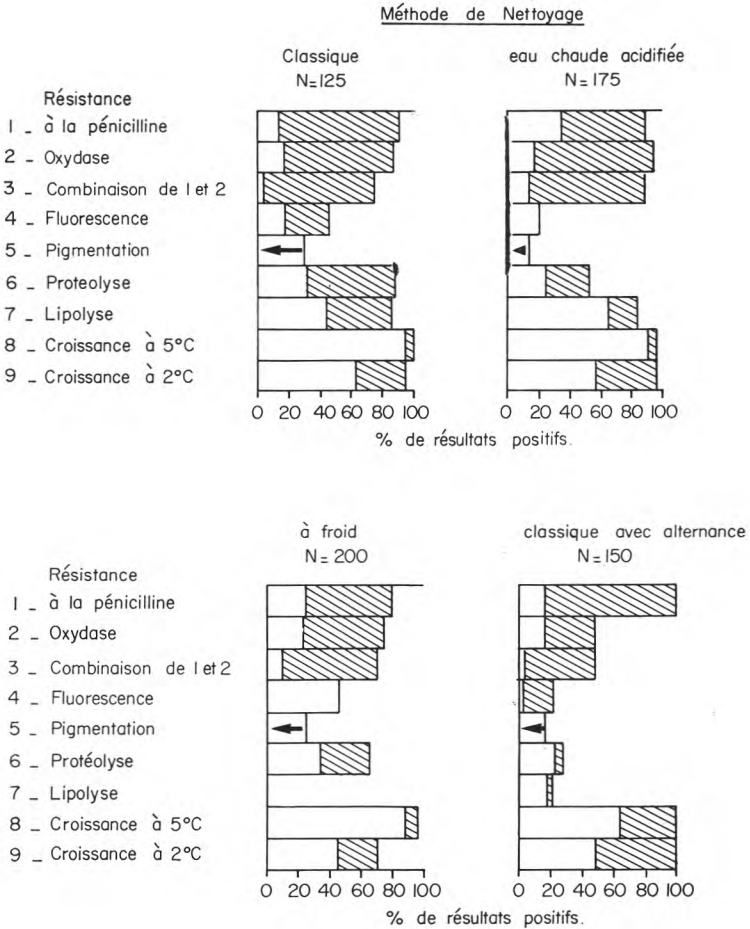


fig. 1

Modification de la nature de la flore psychrotrophe du lait cru durant sa conservation 4 j à 4-5° C (hachuré : après conservation ; N = nombre de souches examinées).

En particulier, bien que le lait provenant des étables où se pratique le nettoyage à froid, contienne initialement plus de micro-organismes psychrotrophes que celui des autres étables, il ne se conserve pas plus mal et parfois mieux.

Par ailleurs, au cours de cette étude, nous avons constaté un changement radical dans la nature de la flore psychrotrophe du lait comme en témoigne la figure 1. On y voit que le pourcentage de

TABLEAU 2

Relations entre les nombres de micro-organismes appartenant à divers groupes

N°	Groupe Microbien		Nombre d'éch.	Moyenne log.		Coefficient de corrélation
	x	y		x	y	
1	FT finale/PCA	FP finale/PCA	49	670 000	880 000	0,965
2	FT finale/PCA	FTR finale/PCA	56	1 600 000	920 000	0,937
3	FP finale/PCA	FP finale/NA	68	580 000	1 300 000	0,757
4	FP finale/PCA	FP initiale/PCA	68	1 400 000	3 100	0,670
5	FP finale/PCA	FTR initiale/PCA	56	2 700 000	1 000	0,501
6	FP finale/PCA	FTR initiale/PCA oxydase positive	23	840 000	430	0,541
7	FP finale/PCA	FPR initiale/NA	31	8 800 000	730	0,606

FT : Flore totale, incubation 3 j à 30° C.

FP : Flore psychrotrophe, incubation 10 j à 7° C.

FTR : Flore totale résistante à la pénicilline (100 UI/ml),
incubation 3 j à 30° C.FPR : Flore psychrotrophe résistante à la pénicilline
(100 UI/ml), incubation 10 j à 7° C.

PCA : Plate Count Agar.

NA : Nutrient Agar.

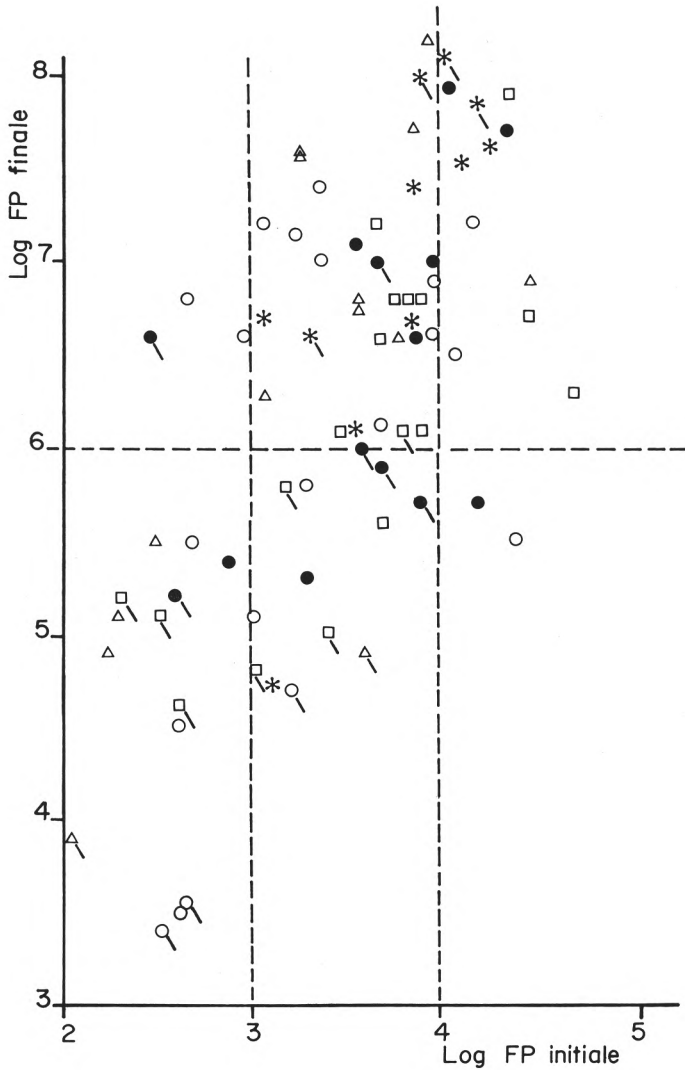


fig. 2

Relation entre les logarithmes des nombres de micro-organismes psychrotrophes avant conservation (Log FP initiale) et après conservation (Log FP finale) des échantillons de lait 4 j à 4-5° C

Nettoyage classique (○), à l'eau chaude acidifiée (△), classique avec alternance (●), simplifiée (*), à froid (□), \ arrivée au tank.

souches résistantes à la pénicilline (critère 1), ou à oxydase positive, suivant la méthode de Gaby et Hadley (critère 2), ou possédant les deux caractères à la fois (critère 3), augmente considérablement quel que soit le mode de nettoyage des machines à traire, alors que les souches pigmentées sont généralement absentes (proportion inférieure à 1/25) de la flore dominante du lait après conservation. Le pourcentage de souches fluorescentes (critère 4) s'accroît aussi fortement, sauf pour le nettoyage à l'eau chaude acidifiée où il reste constant. Si l'on considère les quatre autres critères, le changement est moins important ou moins général.

Le tableau 2 montre, toutes méthodes de nettoyage confondues, la relation entre les nombres de micro-organismes appartenant aux différents groupes ; la figure 2 illustre en particulier la relation entre les flores psychrotrophes initiale et finale du lait.

On constate tout d'abord (relation 1) qu'après conservation, la flore totale atteint un niveau significativement inférieur à celui de la flore psychrotrophe ($P < 0,01$), et que pour cette dernière (relation 3), le milieu NA permet d'obtenir des nombres plus élevés que le PCA ($P < 0,01$). Toutefois, la corrélation entre les dénombrements obtenus avec ces deux milieux est significativement moins bonne que dans les relations 1 ou 2 ($P < 0,001$). Nous prendrons néanmoins par la suite, comme références, les résultats de dénombrement de la flore psychrotrophe sur PCA. Le tableau 2 montre aussi la faible valeur des coefficients de corrélation entre, d'une part, les nombres de micro-organismes psychrotrophes (sur PCA) après conservation et, d'autre part, les nombres initiaux de bactéries appartenant aux divers groupes (relation 4 à 7).

La plupart des micro-organismes psychrotrophes résistants à la pénicilline isolés des échantillons de lait avant et après conservation, ont été classés en huit groupes définis dans le tableau 3. Une collection de soixante-dix-neuf souches représentatives de ces micro-organismes a été soumise à une étude taxonomique [23]. Cette étude a permis d'identifier en particulier les micro-organismes de chacun de ces groupes : les souches appartenant aux groupes I et II ont été classées comme étant respectivement pour 92 p. 100 et 100 p. 100 d'entre elles, des *Pseudomonas fluorescens* ; 75 à 100 p. 100 des souches appartenant aux groupes III à VII étaient apparentées à *P. putida*, le reste étant des variétés de *P. fluorescens*. Le groupe VIII correspondait à 100 p. 100 à une variété *non liquefaciens* de l'espèce *Acinetobacter lwoffii**. Les autres genres ou espèces identifiées (*P. maltophilia*, *Hafnia alvei*, *Flavobacter* ou *Cytophaga*...) étaient relativement rares.

* Nous remercions M. Cl. Richard, Institut Pasteur de Paris, qui a identifié les souches du groupe VIII et confirmé notre identification des souches des groupes I à VII.

TABLEAU 3
Classement des souches de micro-organismes isolées du lait
avant et après conservation 4 j à 4-5° C

Critère	Groupe microbien							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Fluorescence	+	—	+	+	—	—	—	—
Oxydase (Gaby et Hadley)	+	+	+	—	+	+	—	—
Culture à 2° C	+	+	+	+	+	+	+	—
Hydrolyse de la gélatine	+	+	—	—	+	—	—	—
Lipolyse en 48 h	+(a)	+	—	—	—	—	—	+

(a) 53 p. 100 seulement des souches hydrolysent la tributyrine.

En outre, toutes les souches poussaient sur milieu VRB sans produire d'acide à partir du lactose.

TABLEAU 4

Pourcentage de souches appartenant aux principaux groupes de micro-organismes psychrotrophes résistants à la pénicilline dans le lait avant et après conservation 4 j à 4-5° C

Groupe	Espèce présumée	p. 100 de souches	
		Avant conservation	Après* conservation
I	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	45,6	44,6
II		5,8	3,1
III	Apparentée à <i>Pseudomonas putida</i>	3,1	4,2
IV		5,4	3,0
V		4,5	19,4
VI		9,4	17,7
VII		3,6	4,8
VIII	<i>Acinetobacter lwoffii</i> var. <i>non liquefaciens</i>	6,3	0
	Non classées	16,3	3,2
	Nombre d'échantillons	31	32
	Nombre de souches	720	735

* Echantillon de lait contenant plus de 10⁶ micro-organismes/ml.

Sur le tableau 4 figurent les pourcentages des micro-organismes appartenant à ces groupes dans le lait avant et après conservation. On constate tout d'abord que les 3/4 environ des souches avant conservation et plus de 95 p.100 après appartiennent au genre *Pseudomonas*. On observe également, du fait du stockage du lait, une augmentation significative ($P < 0,01$) des pourcentages de souches appartenant aux groupes V et VI (*Pseudomonas* apparentés à *P. putida*), et corrélativement, une diminution dans le groupe III (*A. lwoffii*) et dans celui des souches non classées.

IV. DISCUSSION

Le seuil de 10^6 à 10^7 micro-organismes psychrotrophes par ml de lait à partir duquel on commence à détecter une altération de sa qualité organoleptique [11, 16, 19] a été atteint pour le lait de deux traites conservé 4 j à 4-5° C dans la majorité des fermes, sans que l'on observe de relation nette avec la méthode de nettoyage des machines à traire ou même avec le degré de contamination initiale en ces micro-organismes. Il est vraisemblable que dans les conditions pratiques réelles, la qualité bactériologique du lait après une conservation aussi longue aurait été encore plus mauvaise, en raison de l'augmentation de sa température au cours des traites successives.

On peut être surpris de ces résultats, et en particulier du fait que le lait provenant d'étables dans lesquelles les machines à traire sont nettoyées à l'eau chaude acidifiée (méthode reconnue comme étant la plus efficace [10, 21, 27]) ne se conserve pas mieux, en 4 j à 4-5° C, que celui produit dans des fermes utilisant un nettoyage considéré, *a priori*, comme moins efficace. Un défaut d'efficacité de cette opération en est sans doute la cause. Cependant cette explication peut être rejetée pour deux des huit exploitations de ce groupe. En effet, un contrôle régulier de la propreté bactériologique des machines à traire a montré que la contamination du lait par ces dernières était inférieure à 1 000 micro-organismes par ml dont moins de 500 étaient psychrotrophes [21]. Nous avons également établi que dans ces fermes, la contamination microbienne du lait est essentiellement due à un mauvais lavage des mamelles [2]. Cette source de micro-organismes qui peut apporter, par ml de lait, de 25 000 à 210 000 micro-organismes totaux ou de 500 à 2 300 micro-organismes psychrotrophes [20] contribue sans doute pour une part non négligeable, à la contamination initiale dans toutes les étables, y compris celles dans lesquelles on effectue le nettoyage classique ou à froid. Or, bien que dans ces dernières, la moitié au moins de la flore psychrotrophe du lait provienne indiscutablement des machines à traire [21], la qualité bactériologique du lait conservé 4 j à 4-5° C n'était pas beaucoup plus mauvaise, en moyenne, que celle du lait ayant pour origine les fermes qui pratiquaient le nettoyage clas-

sique. Cette situation tient au fait que la flore psychrotrophe du lait avait probablement une autre origine que la machine à traire ou la peau des mamelles, par exemple les tanks réfrigérants mal nettoyés, ou au fait que cette flore s'est multipliée dans les tanks réfrigérants eux-mêmes, à cause d'un refroidissement insuffisant ou trop lent du lait [15]. C'est ce que suggère le fait que le lait prélevé avant son introduction dans les tanks réfrigérants se conservait, en général, mieux que celui prélevé dans ces derniers (fig. 1).

On peut être étonné, par ailleurs, que la flore dominante des échantillons qui contenaient après conservation, plus de 10⁶ micro-organismes psychrotrophes par ml, soit composée presque exclusivement de *Pseudomonas* du groupe *fluorescent*, alors que le lait renfermait initialement d'autres espèces microbiennes en nette majorité. Ce changement complet de la nature de la flore psychrotrophe du lait après conservation prolongée au froid, déjà signalé par d'autres auteurs [7, 29] provient du fait que seuls ces *Pseudomonas* sont capables de se multiplier activement à 5° C dans ce milieu. Nous avons vérifié que les autres micro-organismes psychrotrophes présents dans le lait cru avant conservation sont incapables de se multiplier rapidement dans ce liquide à 5° C. Cela confirme les observations de Marth et Frazier [13] pour ce qui concerne le genre *Flavobacterium* ; cependant, nous n'avons pas trouvé, après conservation, les espèces d'« *Achromobacter* » (*Alcaligenes* ou *Acinetobacter*), d'*Alcaligenes*, ou d'*Aerobacter* dont la vitesse de croissance dans le lait serait, d'après ces auteurs, semblable à celle des *Pseudomonas*. Cela provient peut-être du fait que ces espèces étaient, dans notre étude, en nette minorité par rapport aux *Pseudomonas*, ou bien qu'elles correspondent à nos variétés atypiques de *Pseudomonas*.

De même, contrairement à Gyllenberg *et al.* [7], nous n'avons pas trouvé de *P. fragi*, alors que cette espèce devrait, d'après ces auteurs, croître aussi rapidement que *P. fluorescens*. Les bactéries identifiées à *P. fragi* par Gyllenberg *et al.* correspondaient peut-être aussi aux variétés atypiques de nos *Pseudomonas* que nous avons apparentées à *P. putida* [23].

Les diverses méthodes bactériologiques d'estimation de la « qualité de conservation » du lait cru à basse température que nous avons essayées, ont donné des résultats peu encourageants. En effet, les faibles valeurs des coefficients de corrélation entre le niveau de la population microbienne après conservation et les nombres de micro-organismes appartenant à l'un quelconque des groupes dénombrés avant conservation ne permettent pas de prédire avec une précision suffisante quel serait le niveau de la flore après conservation. Cela est dû, en partie, au fait qu'aucun de ces groupes contient en majorité les espèces de *Pseudomonas* qui dominent après conservation. Ainsi par exemple, le dénombrement à 30° C des micro-organismes résistants à la pénicilline préconisé par Lightbody [12] ou par Seuranen *et al.* [24] englobe celui de *Pseudomonas* non psy-

chrotrophes, de coliformes et d' *Acinetobacter* qui ne se développent pas dans le lait à 5° C. L'évaluation du nombre de micro-organismes oxydase-positifs [8] résistants ou non à la pénicilline, concerne une proportion large et variable de bactéries appartenant au genre *Flavobacterium* et par contre, ne tient pas compte des nombreux *Pseudomonas* psychrotrophes du groupe fluorescent qui ne possèdent pas une oxydase suffisamment active pour donner une réaction positive à cette épreuve [23].

Par ailleurs, les méthodes qui mettent en jeu le caractère protéolytique des micro-organismes psychrotrophes [14, 25], en plus d'être parfois délicates à mettre en œuvre, ne devraient pas être plus précises puisque, comme nous l'avons montré, la flore qui pousse dans le lait à 5° C ne se distingue pas nettement, sur ce plan, de celle qui n'y pousse pas. Il n'est pas sûr également qu'un dénombrement spécifique des *Pseudomonas* psychrotrophes du groupe fluorescent permette une meilleure prédiction de la qualité de conservation du lait, car il existe vraisemblablement parmi eux des différences importantes de vitesse de croissance à 5° C dans ce milieu.

Les coefficients de corrélation obtenus étant cependant tous significatifs, on peut établir, pour chaque groupe microbien, un seuil approximatif à ne pas dépasser initialement dans le lait pour qu'après conservation, ce dernier contienne moins de 10⁶ cellules microbiennes par ml. La figure 2 et le tableau 1 suggèrent que ce seuil devrait être compris entre 1 000 et 2 000/ml pour la flore psychrotrophe ; il apparaît donc nettement plus sévère que celui proposé par Thomas et Thomas [28].

En conclusion, si l'on veut augmenter la durée de conservation du lait cru sans nuire à sa qualité, il faut soit réduire sa contamination microbienne en micro-organismes psychrotrophes au-dessous de ce seuil, soit abaisser sa température de conservation. Cette dernière solution paraît la plus facile et la plus rapide à mettre en œuvre.

Remerciements

Je remercie M. Auclair pour ses conseils et critiques au cours de l'étude et MM. Bergère et Hermier pour leur aide dans la préparation du manuscrit.

Une partie du travail a été réalisée dans le cadre d'une collaboration avec l'I.T.E.B. et les laboratoires d'analyse du lait du Mans et de Verdun. Mes remerciements vont également aux membres de ces organismes pour l'aide qu'ils m'ont accordée.

Résumé

Environ soixante-dix échantillons de lait de mélange de deux traites refroidies à 4-5° C ont été prélevés dans trente-trois fermes dans lesquelles cinq méthodes différentes de nettoyage des machines

à traire étaient utilisées. Ces échantillons ont fait l'objet de dénombrements microbiens avant et après une conservation supplémentaire de 4 j entre 4 et 5° C.

On a constaté que dans l'ensemble le lait contenait souvent, après cette conservation, plus de 10^6 micro-organismes/ml. Aucune relation nette n'a été observée entre l'utilisation d'une méthode particulière de nettoyage des machines à traire et le niveau de contamination du lait après conservation, ni entre la teneur initiale du lait en divers groupes microbiens et sa teneur en micro-organismes après conservation. Toutefois, le lait renfermant initialement moins de 2 000 microbes psychrotrophes/ml, en contenait généralement moins de 10^6 après stockage.

Par ailleurs, un changement profond dans la nature de la flore psychrotrophe du lait au cours de sa conservation a été mis en évidence. Les principales caractéristiques de la flore dominante après conservation sont données.

Summary

INFLUENCE OF SEVERAL METHODS OF MILKING MACHINE CLEANING ON THE KEEPING QUALITY OF RAW MILK STORED AT A LOW TEMPERATURE

About 70 samples of raw milk (mixture of 2 milkings refrigerated at 4-5° C) from 33 farms in which 5 milking machine cleaning methods were used were submitted to enumeration of different groups of microorganisms before and after 4 days of storage at 4-5° C.

The milk contained more than 10^6 microorganisms/ml after this period of storage whatever the cleaning method used in the farms. In addition, the relationship between the numbers of different kinds of bacteria in milk before storage and the level of the microflora after storage was poor. This was partly due to the fact that only a small proportion of milk psychrotrophic microorganisms can grow at 4-5° C. The main characteristics these microorganisms, identified elsewhere as *Pseudomonas* of the fluorescent group, are given.

Reçu pour publication en janvier 1981.

Bibliographie

- [1] ANONYME (1972). — Standard methods for the examination of dairy products. American Public Health Association, 13th ed., Washington (U.S.A.).
- [2] CHATELIN (Y. M.) et RICHARD (J.) (1978). — Caractérisation de la flore microbienne du lait cru suivant son origine. *XX^e Congrès International de Laiterie*, 90-91.
- [3] CLOUGH (P.), AKAM (D.) and CANT (D.) (1965). — Circulation cleaning of pipeline milking machines with boiling water. *NIRD paper n° 2939*.

- [4] DOUDOROFF (M.) and PALLERONI (N. J.) (1974). — Gram-negative aerobic rods and cocci. *Genus I. Pseudomonas*. In Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th ed., p. 217-243, Williams & Wilking Co, Baltimore (U.S.A.).
- [5] GABY (W. L.) and HADLEY (C.) (1957). — Practical laboratory test for the identification of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology*, 74, 356-358.
- [6] GILCHRIST (J. E.), CAMPBELL (J. E.), DONNELLY (C. B.), PEELER (J. T.) and DELANEY (J. M.) (1973). — Spiral plate method for bacterial determination. *Applied Microbiology*, 25, 244-252.
- [7] GYLLENBERG (H.), EKLUND (E.), CARLBERG (G.), ANTILA (M.) and VARTIOVAARA (U.) (1963). — Contamination and deterioration of market milk. VI. Application of taxometrics in order to evaluate relationships between microbiological characteristics and keeping quality of market milk. *Acta Agricultura Scandinavica*, 13, 177-194.
- [8] HANKIN (L.), PERNICE (A. R.) and DILLMAN (W. F.) (1968). — Quality control of milk production by means of cytochrome oxidase test. *Journal of Milk and Food Technology*, 31, 165-170.
- [9] JARVIS (B.), LACH (V. H.) and WOOD (J. M.) (1977). — Evaluation of the spiral plate maker for the enumeration of microorganisms in foods. *Journal of Applied Bacteriology*, 43, 149-157.
- [10] JEFFREY (D. C.) and HUNTER (A. C.) (1970). — Acidified boiling water treatment of parlour milking installations. *Journal of the Society of Dairy Technology*, 23, 70-74.
- [11] JUFFS (H. S.) (1975). — Proteolysis detection in milk. III. Relationships between bacterial populations, tyrosine value and organoleptic quality during extended storage of milk and cream. *Journal of Dairy Research*, 42, 31-41.
- [12] LIGHTBODY (L. G.) (1964). — Media containing penicillin for detecting spoilage organisms in milk and cream. *Australian Journal of Dairy Technology*, 19, 81-84.
- [13] MARTH (E. H.) and FRAZIER (W. C.) (1957). — Bacteriology of milk held at farm bulk cooling temperatures. III. Psychrophiles found and their growth. *Journal of Milk and Food Technology*, 20, 93-99.
- [14] MARTLEY (F. G.), JAYASHNKAR (S. R.) and LAWRENCE (B. C.) (1970). — An improved agar medium for the detection of proteolytic organisms in total bacterial counts. *Journal of Applied Bacteriology*, 33, 363-370.
- [15] MOURGUES (R.), VASSAL (L.) et AUCLAIR (J.) (1967). — Influence de la vitesse de refroidissement et de la température de conservation en tanks de ferme sur le développement de la flore microbienne du lait cru. *Congrès International du froid, Madrid*, 4-36, 1-8.
- [16] PATEL (G. B.) and BLANKENAGEL (G.) (1972). — Bacterial counts of raw milk and flavor of the milk after pasteurization and storage. *Journal of Milk and Food Technology*, 35, 203-206.
- [17] PEELER (J. T.), GILCHRIST (J. E.), DONNELLY (C. B.) and CAMPBELL (J. E.) (1977). — A collaborative study of the spirale plate method for examining milk samples. *Journal of Food Protection*, 40, 462-464.
- [18] PUNCH (J. D.) and OLSON Jr. (J. C.) (1964). — Comparison between standard methods procedure and a surface plate method for estimating psychrophilic bacteria in milk. *Journal of Milk and Food Technology*, 27, 43-47.
- [19] PUNCH (J. D.), OLSON Jr. (J. C.) and THOMAS (E. L.) (1965). — Psychrophilic bacteria. III. Population levels associated with flavor or physical change in milk. *Journal of Dairy Science*, 48, 1179-1183.

- [20] RICHARD (J.) (1978). — Contamination microbienne du lait de vaches par la peau des mamelles. *XX^e Congrès International de Laiterie*, 92-93.
- [21] RICHARD (J.) (1981). — Microbiological aspects of cold-cleaning with an iodophor of milk pipeline installations. *Journal of Applied Bacteriology*, 50, 229-238.
- [22] RICHARD (J.) (1980). — Influence de l'agitation du lait cru sur les résultats de dénombrement de sa flore totale à l'aide d'une anse calibrée. *Le Lait*, LX, 211-225.
- [23] RICHARD (J.) (1981). — Etude taxonomique de la flore psychrotrophe du lait cru conservé 4 j à 5° C. *Annales de Microbiologie (Institut Pasteur)*, 132 A, 171-182.
- [24] SEURANEN (A.), NORDLUND (J.) et KREULA (M.) (1974). — Les bactéries alcalinisantes et résistantes à la pénicilline du lait cru. *XIX^e Congrès International de Laiterie*, B 6, 415.
- [25] TAYLOR (M.) (1967). — A hygienic test for milk. *Dairy Industry*, 32, 278-283.
- [26] TE WHAITI (I. E.) and FRYER (T. F.) (1977). — The enumeration of bacteria in refrigerated milk. *New-Zealand Journal of Dairy Science and Technology*, 12, 51-57.
- [27] THOMAS (S. B.) (1966). — Source, incidence and significance of psychrotrophic bacteria in milk. A review. *Milchwissenschaft*, 21, 270-275.
- [28] THOMAS (S. B.) and THOMAS (B. F.) (1973). — Psychrotrophic bacteria in refrigerated bulk-collected raw milk. Part 1 and 2. *Dairy Industry*, 38, 11-15 and 61-70.
- [29] VANDERZANT (C.) and PATEL (G. D.) (1967). — Quantitative microbiol examination of some milks and meat products during storage by a replica plating technique. *Journal of Milk and Food Technology*, 30, 171-178.
- [30] WITTER (L. D.) (1961). — Psychrophilic bacteria. A review. *Journal of Dairy Science*, 44, 983-1015.
-