

NOTE TECHNIQUE : INFLUENCE DES CONDITIONS DE BROYAGE DANS LES CHAINES "PATHOGENES FROMAGES"

Les résultats observés avec les chaînes microbiologiques dans le fromage ont tendance à être plus dispersés que dans le cas du lait. La préparation des échantillons et notamment leur durée de broyage a sans doute une influence considérable sur la qualité des résultats obtenus. C'est pourquoi, CECALAIT a étudié l'effet de ce paramètre en partant à la fois de résultats obtenus dans le cadre d'essais interlaboratoires et de ceux provenant d'une étude *ad hoc* dans notre laboratoire.

Ces études montrent qu'il faut un temps de broyage d'au moins 2 à 3 min., mais qu'il n'est pas souhaitable de dépasser 3 min., avec le type de fromage utilisé lors de ces essais interlaboratoires. Il est toutefois important que chaque laboratoire adapte son temps de broyage en fonction du matériel utilisé et du type de fromage analysé.

En règle générale, les chaînes microbiologiques "fromage" donnent lieu à une dispersion des résultats plus importante que dans les chaînes lait. Il est également plus difficile d'y déterminer une référence correcte, en particulier, pour les numérations d'*Escherichia coli*.

Pour remédier à ces problèmes, nous avons été amenés à examiner les conditions de préparation des échantillons, et tout particulièrement leur mode de broyage. Les résultats examinés proviennent à la fois d'une sélection de données issues des essais interlaboratoires, ainsi que d'une étude séparée, menée en conditions standardisées au laboratoire de microbiologie de CECALAIT.

INTERPRETATION A PARTIR DES ESSAIS INTERLABORATOIRES:

Sur les 3 chaînes de l'année 1995 (mars, juin et septembre 1995), et d'après les renseignements fournis dans les feuilles de résultats, nous avons essayé de mettre en relation le temps de broyage avec la justesse des laboratoires, et avec leur répétabilité. Pour chaque temps de broyage nous avons calculé la moyenne des \bar{d} et S_d , en :

- ♦ sélectionnant les laboratoires qui avaient procédé aux analyses à la même date et qui utilisaient des milieux équivalents,
- ♦ écartant les laboratoires qui avaient obtenu des résultats aberrants ou qui n'utilisaient pas les méthodes d'analyses courantes.

Les tableaux 1a et b et la figure 1 illustrent, à titre d'exemple les résultats obtenus à partir de la chaîne de Juin 1995.

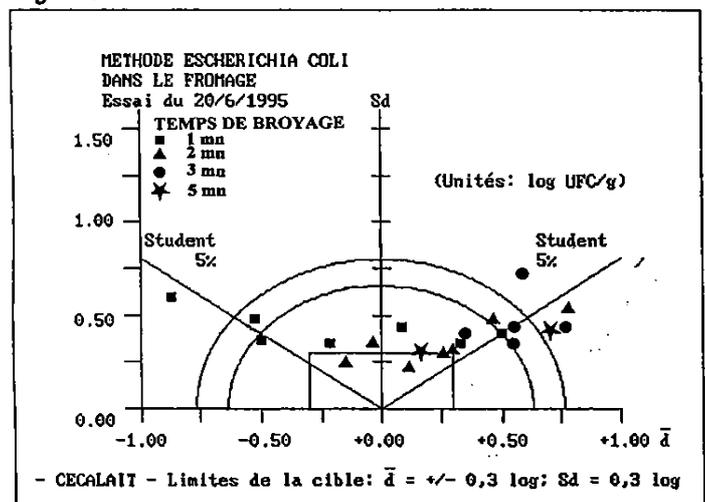
Rappelons que \bar{d} correspond, par laboratoire, à la moyenne des écarts de chaque résultat par rapport à la référence; la référence est ici la moyenne par échantillon de tous les laboratoires.

tableau 1a	JUSTESSE: moyenne des \bar{d} en log (nb de labos)		
Tps broyage	0,5 à 1,5 min	2 min	3 à 5 min
Staphylocoques	-0,015 (18)	+0,042 (11)	+0,096 (9)
<i>E. coli</i>	-0,082 (8)	+0,166 (10)	+0,524 (7)

tableau 1b	REPETABILITE: moyenne des S_d en log (nb de labos)		
Temps de broyage	0,5 à 1,5 min	2 min	3 à 5 min
Staphylocoques	0,129 (15)	0,053 (4)	0,062 (5)
<i>E. coli</i>	0,161 (7)	0,142 (5)	0,103 (4)

Rappel : S_d est l'écart-type de répétabilité calculé pour chaque laboratoire.

Figure 1



L'ensemble des résultats obtenus permet de constater que :

- ♦ Dans tous les cas, un temps de broyage de 1 minute est insuffisant pour permettre une bonne dispersion des germes (\bar{d} les plus faibles et S_d les plus élevés)
- ♦ Selon les chaînes, sans doute à cause de la texture du fromage, les différences sont plus ou moins marquées entre un broyage de 2 minutes et un broyage de 2,5 à 5 minutes. Elles sont très nettes dans l'exemple ci-dessus.
- ♦ En général, il faut un temps de broyage plus long pour homogénéiser les *E. coli* que pour les Staphylocoques.

Un temps de broyage de 2 minutes permet d'obtenir une bonne répétabilité pour les Staphylocoques, alors qu'il faut au moins 3 minutes pour les *E. coli*. La figure 1 montre que, pour ces germes, des temps de broyage différents ont conduit à une importante dispersion des moyennes des \bar{d} .

En conclusion, le temps optimal de broyage pour les numérations est de 2 à 3 minutes (\bar{d} les plus élevés et S_c les plus faibles).

Toutefois, l'utilisation des seuls résultats provenant des différents laboratoires ayant participé aux essais interlaboratoires ne nous permettait pas de contrôler l'ensemble des conditions analytiques susceptibles d'influencer les résultats. C'est pourquoi nous avons également mené une petite étude en conditions standardisées dans notre laboratoire.

ETUDE A CECALAIT EN CONDITIONS STANDARDISEES:

L'étude a porté sur trois échantillons différents. Chacun d'eux a été dilué au 1/10e (soit 10 g dans 90 ml de tampon phosphate) puis broyé au Stomacher dans des sacs avec filtre sur une longueur de 20 cm. Ils ont été analysés pour différents temps de broyage en doubles par la méthode Spiral. Les tableaux 2a et b regroupent les résultats obtenus.

tableau 2a	Moyenne des différences par rapport à 5 min en log : \bar{d} et écart type entre échantillons en log : ET					
	Temps broyage	1 min	2 min	3 min	5 min	10 min
Staph.	\bar{d}	-0,183*	-0,029	-0,001	0,000	+0,042*
	ET	0,035	0,014	0,002	0,018	0,016
<i>E. coli</i>	\bar{d}	-0,165*	-0,041*	-0,025	0,000	-0,010
	ET	0,014	0,012	0,010	0,016	0,019

* Différence significative par rapport à 5 minutes par le test de Student

\bar{d} est ici la moyenne des écarts par rapport au temps de broyage de 5 minutes, pris arbitrairement comme référence. Les résultats

obtenus dans le tableau 2a ne doivent donc pas être comparés à ceux du tableau 1a.

tableau 2b	Ecart type de répétabilité en log				
	1 min	2 min	3 min	5 min	10 min
Temps broyage					
Staphylocoques	0,043	0,027	0,016	0,031	0,034
<i>E. coli</i>	0,052	0,045	0,008	0,036	0,029

La norme FIL 122B préconise un temps de broyage de 1 à 3 minutes, cependant les résultats obtenus dans le tableau ci-dessus montrent de grandes différences de numération entre 1 et 3 minutes (0,14 log pour *E. coli*, et 0,18 log pour les Staphylocoques).

D'après nos essais, il n'est pas souhaitable de prolonger le broyage au delà de 3 minutes, temps pour lequel les écarts types de répétabilité et les écarts types entre échantillon sont les plus faibles. En outre, 3 minutes correspond à un aspect visuel homogène de la suspension mère, sans grain de fromage.

Adapter le temps de broyage à son produit!

En conclusion, un temps de broyage de 3 minutes peut donc être préconisé pour ce type de fromage. Cependant, ce temps peut et doit être modifié suivant le matériel utilisé (broyeur, sac, vitesse de broyage...) et suivant la texture plus ou moins compacte de ce produit d'une chaîne à l'autre. Une vérification visuelle de l'homogénéité de la suspension-mère est indispensable.

Dans la pratique, avec des fromages de texture différente, le temps de broyage optimal peut varier. Aussi, est-il conseillé à chaque laboratoire dans ses analyses de routine, d'adapter le temps de broyage à chaque type de produit analysé.

(par P. ROLLIER)