

 UNIVERSITÉ
LAVAL

Diversité et structure microbienne du lait cru des fermes laitières au Québec

Par
Gisèle LaPointe, Ph.D.

 UNIVERSITY
of GUELPH

 Op+lait

METTRE EN VALEUR LA TYPICITÉ
DU FROMAGE AU LAIT CRU...
SANS EMBÛCHES !

28 FÉVRIER 2024

CEFQ

1

Plan

- Mise en contexte**
 - Écologie microbienne du lait cru et des ensilages
 - Problématique
- Hypothèse de recherche et objectifs**
- Méthodologie**
- Résultats**
 - Écologie microbienne de fourrages d'herbes et de maïs ensilés avec ou sans inoculants
 - Relation entre le type de fourrages, l'utilisation d'inoculants et le microbiote du lait cru
- Conclusion générale**

2

2

Mise en contexte

Écologie microbienne du lait cru



Caractéristiques

- Riche en nutriments
- Facteurs de variation: lactation, génétique, âge, état de santé, type d'alimentation
- Température de 38 °C à la sortie du pis, conservation à 4 °C
- pH 6,6 à 25 °C
- Aw 0,993

Bactéries mésophiles aiment la T° modérée

Bactéries psychrotrophes aiment le froid

3

3

Mise en contexte

Écologie microbienne du lait cru



Composition et diversité microbienne

- Écosystème complexe, microbiote dynamique, riche, diversifié
- Bactéries, levures, moisissures
- Jusqu'à 20 000 cfu/ml → lait cru fraîchement récolté
- Si charge élevée, diversité conservée après pasteurisation
- Réfrigération: abondance augmente, diversité diminue

Chambers, 2002; Rasolofo et al., 2010; Agarwal et al., 2014

4

4

Mise en contexte

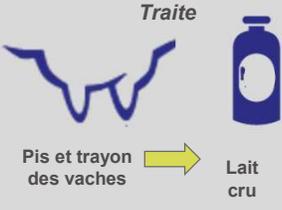
Écologie microbienne du lait cru

Composition et diversité microbienne

- Connaissances fragmentaires




Traite



Pis et trayon des vaches → Lait cru

Lactobacillus, Aerococcus, Acinetobacter, Kocuria, Bacillus, Corynebacterium, Staphylococcus, Pseudomonas, Propionibacterium, Pantoea

Vacheyrou et al., 2012; Driehuis et al., 2013; Hélène Fortier (Op+Lait) 5

5

Mise en contexte

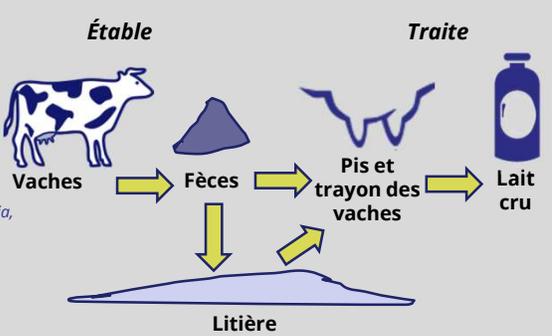
Écologie microbienne du lait cru

Composition et diversité microbienne

- Connaissances fragmentaires



Étable *Traite*



Vaches → Fèces → Pis et trayon des vaches → Lait cru

↓

Litière

Fèces : *Escherichia, Staphylococcus, Listeria, Mycobacterium, Salmonella*

Appareil de traite : *Micrococcus, Streptococcus, Bacillus, coliformes*

Litière : *Clostridium, Bacillus, Klebsiella*

Sol : *Clostridium, Bacillus, Pseudomonas, Mycobacterium, levures et moisissures*

Vacheyrou et al., 2012; Driehuis et al., 2013; Hélène Fortier (Op+Lait) 6

6

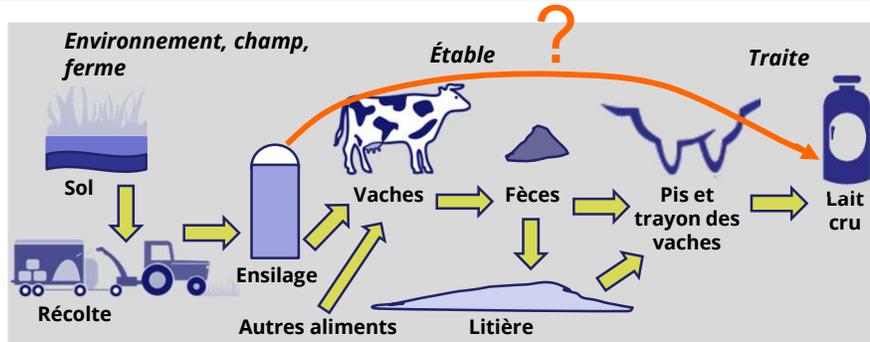
Mettre en valeur la typicité du fromage au lait cru

Mise en contexte

Écologie microbienne du lait cru

Composition et diversité microbienne

- Connaissances fragmentaires



Frank et Hassan, 2002; Driehuis et al., 2013; H el ene Fortier (Op+Lait)

7

7

Mise en contexte

 cologie microbienne des ensilages



Caract eristiques

- Aliment d'origine végétale acide, fermenté, conservé en anaérobie (sacs, silos, bunkers)
-  cosyst me dynamique et variable: type végétal (graminées, légumineuses, maïs), densité, humidité, ana robose, saisons, microbiote indigène, inoculant, niveau de matière sèche
- Succession de conditions aérobie, anaérobie, pH 6 → 3,8

Frank et Hassan, 2002; Driehuis et al. 2013

8

8

Mise en contexte

Écologie microbienne des ensilages



Composition et diversité microbienne

- Communauté microbienne épiphyte et diversifiée
- Mauvaise fermentation: clostridies et bacilles (10^6 à 10^7 spores/g) se retrouvent dans les fèces et le lait
- Pathogène: *L. monocytogenes*
- Moisissures: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* (mycotoxines)
- Levures: *Pichia*, *Candida*, *Saccharomyces*

Frank et Hassan, 2002; Driehuis et al. 2013

9

9

Mise en contexte

Écologie microbienne des ensilages



Effet des inoculants sur le microbiote

- Homofermentaires (acide lactique; AL): *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactocaseibacillus casei*, *Enterococcus faecium*, *Pediococcus* sp.
- Hétérofermentaires (AL + acide acétique): *Lentilactobacillus buchneri*, *Levilactobacillus brevis*, *Leuconostoc mesenteroides*
- Acidification rapide et courte (homofermentaires), ou lente et longue (hétérofermentaires; antifongique; stabilité aérobie)

Au Québec: 95 % ensilage d'herbe versus 50 % ensilage de maïs.

10

10

Problématique

- Connaissances limitées sur la diversité du microbiote d'ensilages et du lait
- Impact des ensilages sur la qualité microbiologique du lait peu connue
- Transferts microbiens peu étudiés, clostridies uniquement

Hypothèse de recherche

L'analyse comparative de la prévalence et de la diversité des communautés microbiennes des fourrages préservés et du lait permet de connaître l'impact de l'alimentation des vaches avec les ensilages sur la qualité microbiologique du lait cru.

11

11

Objectifs

Évaluer l'impact de l'alimentation des vaches avec les ensilages sur le microbiote du lait et identifier les taxons transférés d'ensilages au lait cru.



Permettre aux producteurs et transformateurs laitiers de proposer des pratiques capables d'éliminer les microbes qui affectent la qualité des produits laitiers transformés.

- Estimer la prévalence et la diversité des communautés microbiennes du foin, d'ensilages d'herbe et de maïs, et d'évaluer l'effet des inoculants sur leur structure
- Déterminer l'impact de l'alimentation des vaches avec les fourrages préservés inoculés ou non sur le microbiote du lait cru.

12

12

Méthodologie Recrutement des fermes

Traitement	Type de fourrage	Inoculant potentiel	Nombre de fermes	
H <i>Hay</i>	Foin	Fourrage sec	-	6
GL <i>Grass/Legume</i>	Herbes non inoculées	Ensilages non inoculés	-	6
GLC <i>Grass/Legume and Corn</i>	Mélange d'herbes et de maïs non inoculés		-	3
GLCI <i>Grass/Legume Corn Inoculated</i>	Mélange d'herbes non inoculées et de maïs inoculé	Ensilages inoculés	11C33, 11G22, 11CFT (Pioneer), Buchneri 500, Supersile (Biotal)	3
GLICI <i>Grass/Legume and Corn both Inoculated</i>	Mélange d'herbes et de maïs inoculés		6	

13

13

Méthodologie Échantillonnage des fourrages

Inoculants	Marque / Nom	Application		Composition	
		GLI	CI		
11C33	Pioneer		X	- <i>Lentilactobacillus buchneri</i>	Acides
11G22		X		- <i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	AL+AA
11CFT			X	- <i>Enterococcus faecium</i>	
Buchneri 500	Biotal / MAGNIVA Titanium	X	X	- <i>Lentilactobacillus buchneri</i> NCIMB 40788 - <i>Pediococcus pentosaceus</i> NCIMB 12455	AL+AA
Supersile	Biotal / MAGNIVA Classic	X		- <i>Pediococcus acidilactici</i> NCIMB 12420 - <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> NCIMB 12422	AL

AL+AA

14

14

Mettre en valeur la typicité du fromage au lait cru

Méthodologie Échantillonnage des fourrages



Automne 2015 & Printemps 2016

Échantillons	Type	Nombre total
H	Foin	12
GL	Herbes non inocuées	29
GLI	Herbes inocuées	16
C	Maïs non inoculé	8
CI	Maïs inoculé	16
		81

Répartition des fermes

15

15

Méthodologie Échantillonnage du lait cru



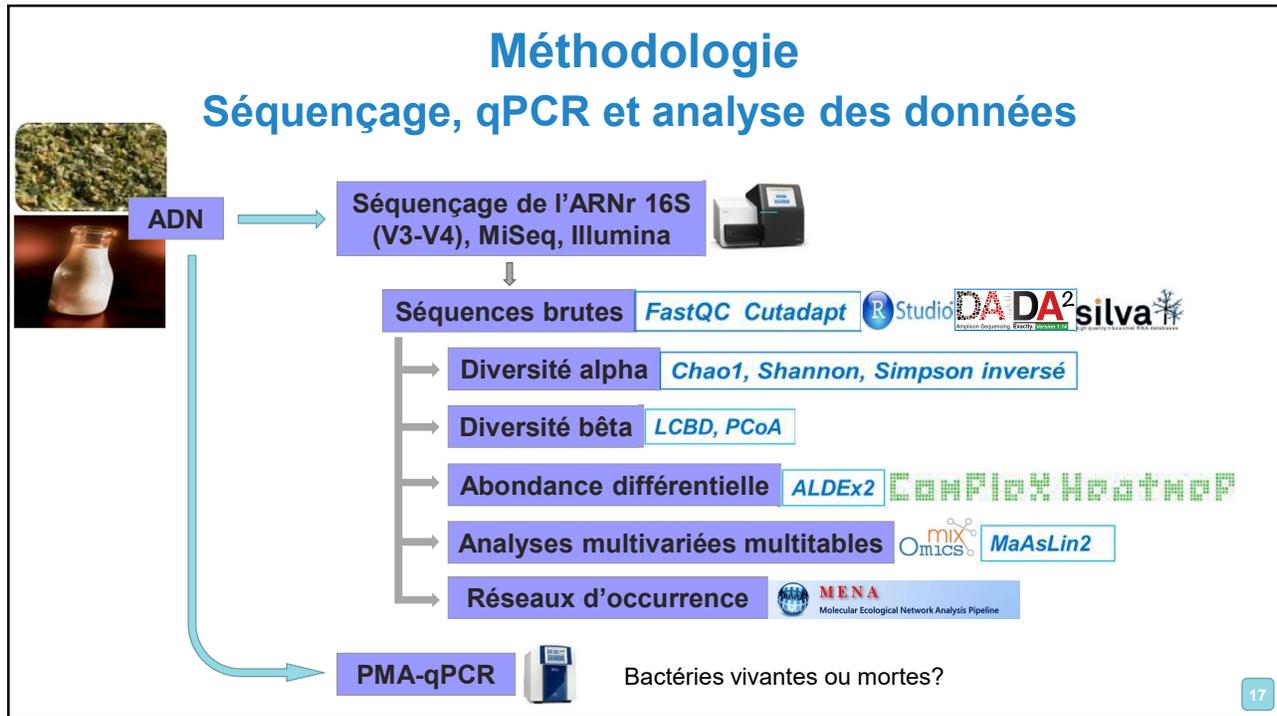
Automne 2015 & Printemps 2016

Échantillons	Type de ferme	Nombre total
H	Foin	12
GL	Herbes non inocuées	12
GLC	Mélange d'herbes et de maïs non inocués	6
GLCI	Mélange d'herbes non inocuées et de maïs inoculé	6
GLICI	Mélange d'herbes et de maïs inocués	12
		48

16

16

Mettre en valeur la typicité du fromage au lait cru



17

Quelques notions de diversité

Diversité alpha

- **Richesse** = nombre d'espèces présentes dans une communauté
- **Abondance** = quantité / proportion de chaque espèce présente
- **Diversité spécifique**: décrit la richesse et l'abondance de l'ensemble des espèces présentes

A < B

2 espèces 4 espèces

B est plus riche et plus diversifié

A < B

3 espèces 4 espèces

B est plus riche mais moins diversifié

Diversité bêta

- Différence de composition en espèces (présence et abondance) entre plusieurs communautés

18

Mettre en valeur la typicité du fromage au lait cru

Résultats

Écologie microbienne de fourrages d'herbes et de maïs ensilés avec ou sans inoculants

frontiers | Frontiers in Systems Biology

TYPE Original Research
PUBLISHED 12 August 2022
DOI: 10.3389/fsysb.2022.955611

Check for updates

OPEN ACCESS

EDITED BY
Liliana Fadul,
University of Wisconsin-Madison,
United States

REVIEWED BY
Soumya Roy Chowdhury,
National Institutes of Health (NIH),
United States
Jie Zhao,
Nanjing Agricultural University, China

*CORRESPONDENCE
Denis Roy,
Denis.Roy@fsaa.ulaval.ca

Metataxonomic insights into the microbial ecology of farm-scale hay, grass or legume, and corn silage produced with and without inoculants

Alexandre J. Kennang Ouamba^{1,2}, Mériele Gagnon^{1,2},
Thibault Varin¹, P. Yvan Chouinard^{2,3}, Gisèle LaPointe^{2,4} and
Denis Roy^{1,2*}

19

19

Résultats

Écologie microbienne de fourrages

Diversité alpha: 3 mesures

Plus élevée dans le foin

➔

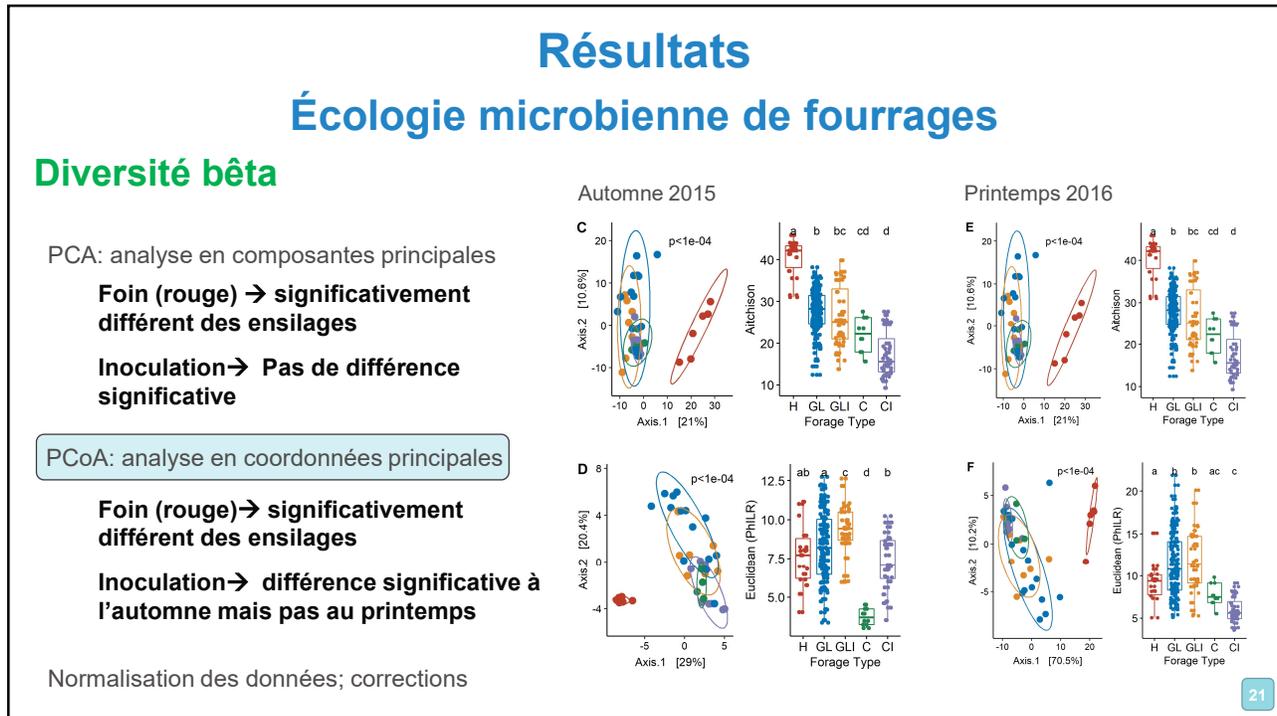
Foin → richesse & diversité plus élevées
Ensilages → Pas de différence significative.

Le processus de fermentation réduit la diversité du microbiote

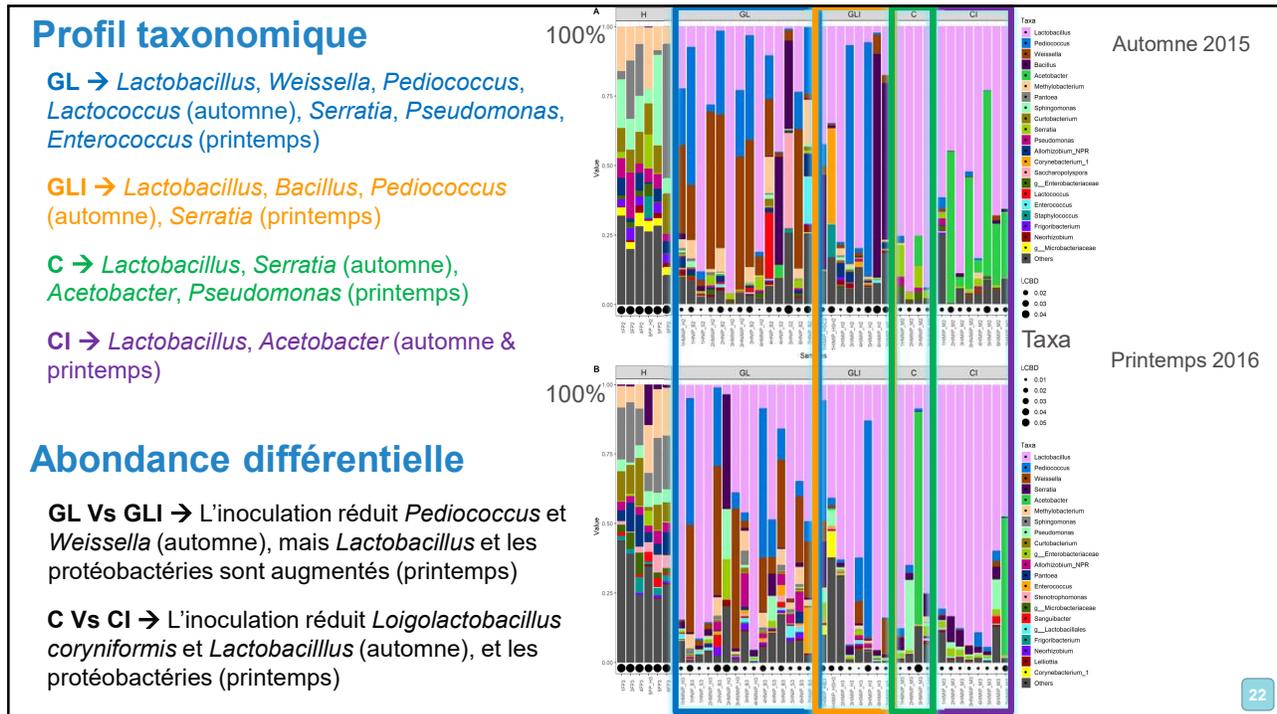
20

20

Mettre en valeur la typicité du fromage au lait cru



21



22

Mettre en valeur la typicité du fromage au lait cru

Conclusions sur les fourrages

- Microbiote du foin (*Sphingomonas*, *Methylobacterium*, *Curtobacterium* et *Pantoea*) significativement différent de celui des ensilages
- L'impact des inoculants sur le microbiote des ensilages semble variable entre les fermes commerciales (facteurs confondants)
- L'enrichissement en LAB des ensilages inoculés est variable (conditions)
- Microbiote d'ensilages d'herbes/légumes dominé par *Lactobacillus* et *Pediococcus*; *Weissella* plus abondant dans GL et *Bacillus* dans GLI
- *Lactobacillus* et *Acetobacter* co-dominent les ensilages de maïs inoculés ou pas

Implications
pour l'affinage
des fromages?

23

23

Résultats

Relation entre le type de fourrages, l'utilisation d'inoculants et le microbiote du lait cru

Frontiers in Microbiology

TYPE Original Research
PUBLISHED 07 November 2023
doi: 10.3389/fmicb.2023.1175663

[Check for updates](#)

OPEN ACCESS

EDITED BY
Pasquale De Palo,
University of Bari Aldo Moro, Italy

REVIEWED BY
Stefano Morandi,
National Research Council (CNR), Italy
Benedetta Bottari,
University of Parma, Italy

*CORRESPONDENCE
Denis Roy
✉ Denis.Roy@fsaa.ulaval.ca

RECEIVED 27 February 2023
ACCEPTED 18 October 2023
PUBLISHED 07 November 2023

Phylogenetic variation in raw cow milk microbiota and the impact of forage combinations and use of silage inoculants

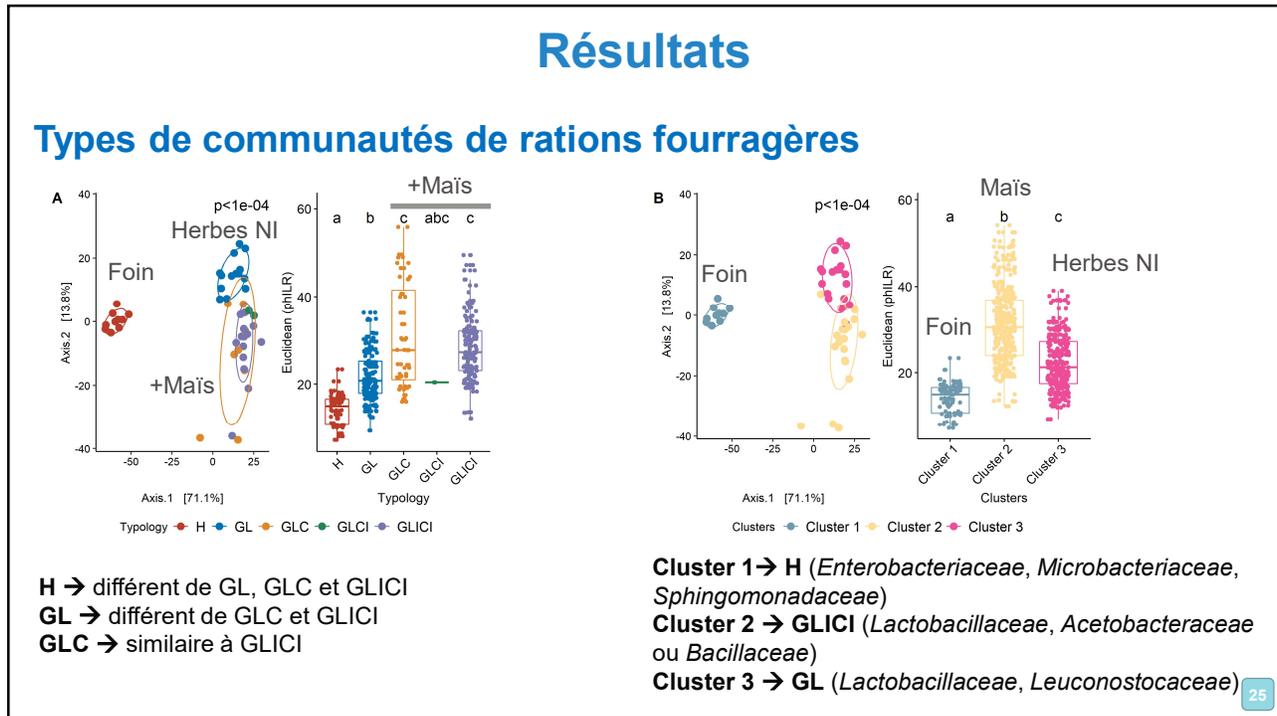
Alexandre J. K. Ouamba^{1,2}, Métilie Gagnon^{1,2}, Thibault Varin¹, P. Yvan Chouinard^{2,3}, Gisèle LaPointe^{2,4} and Denis Roy^{1,2*}

¹Département des Sciences des Aliments, Laboratoire de Génomique Microbienne, Université Laval, Québec, QC, Canada, ²Regroupement de Recherche pour Un Lait de Qualité Optimale (Op'Lait), Saint-Hyacinthe, QC, Canada, ³Département des Sciences Animales, Université Laval, Québec, QC, Canada, ⁴Department of Food Science, University of Guelph, Guelph, ON, Canada

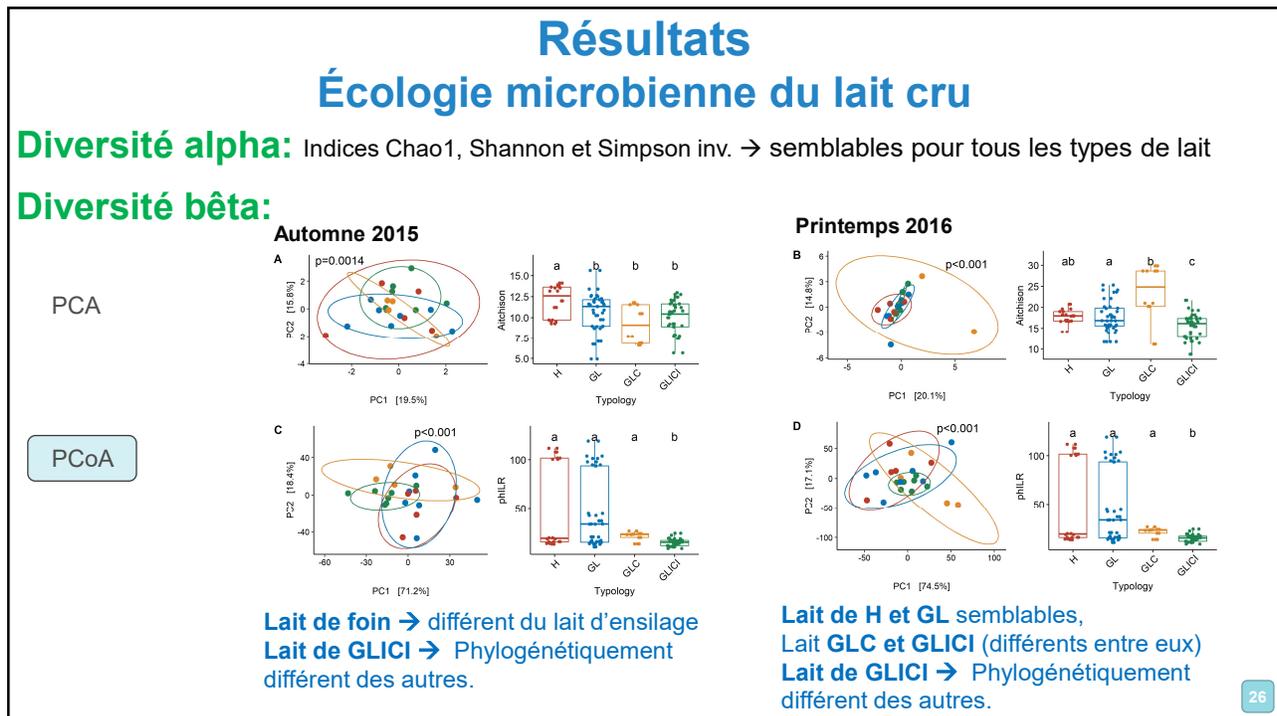
24

24

Mettre en valeur la typicité du fromage au lait cru

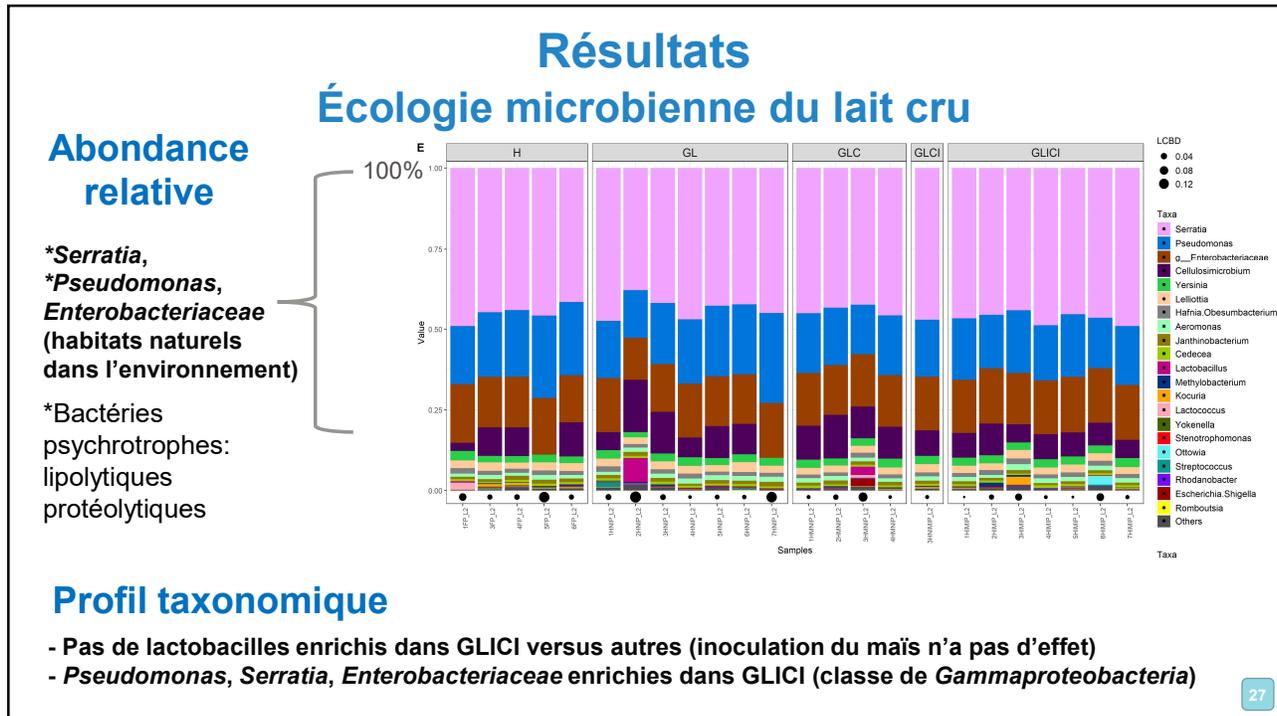


25

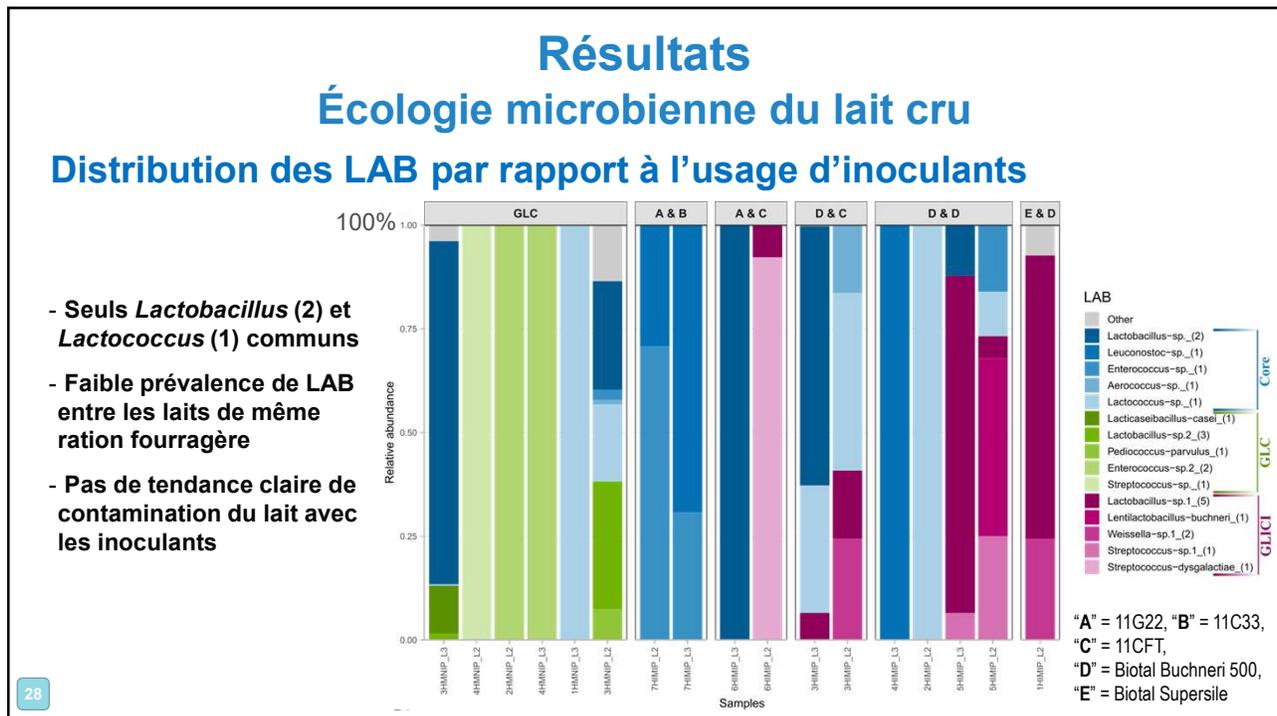


26

Mettre en valeur la typicité du fromage au lait cru

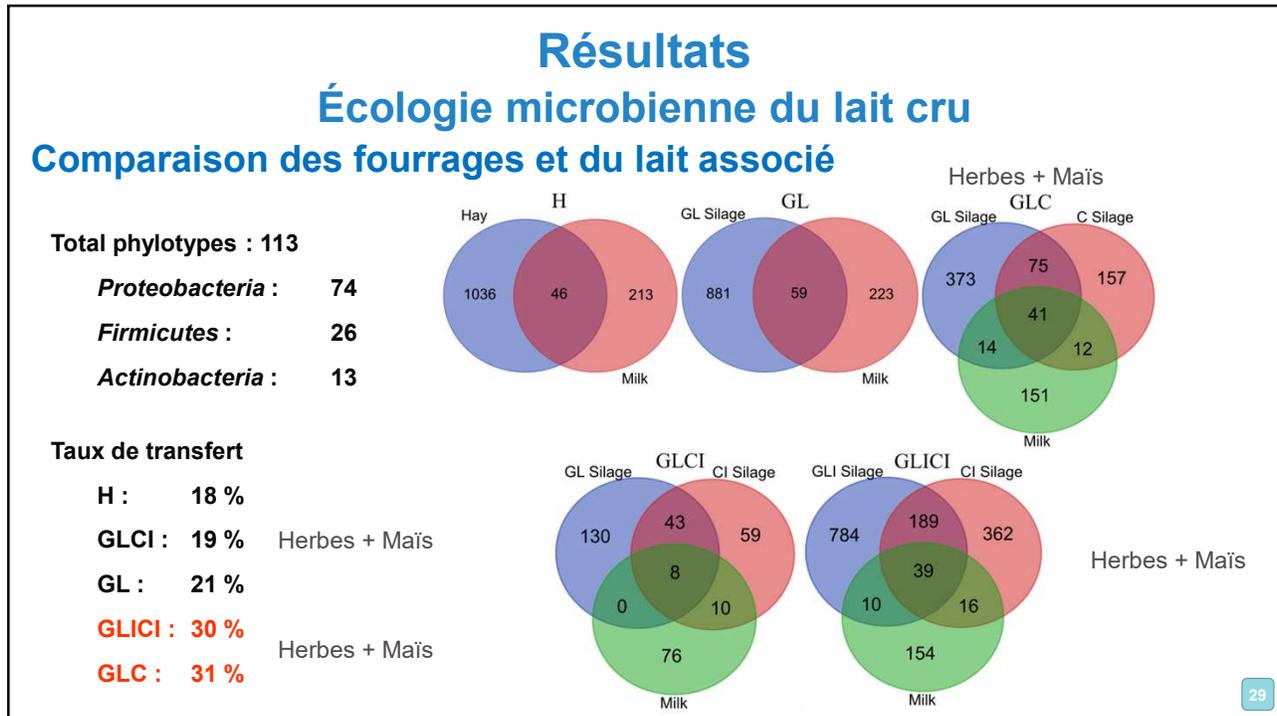


27

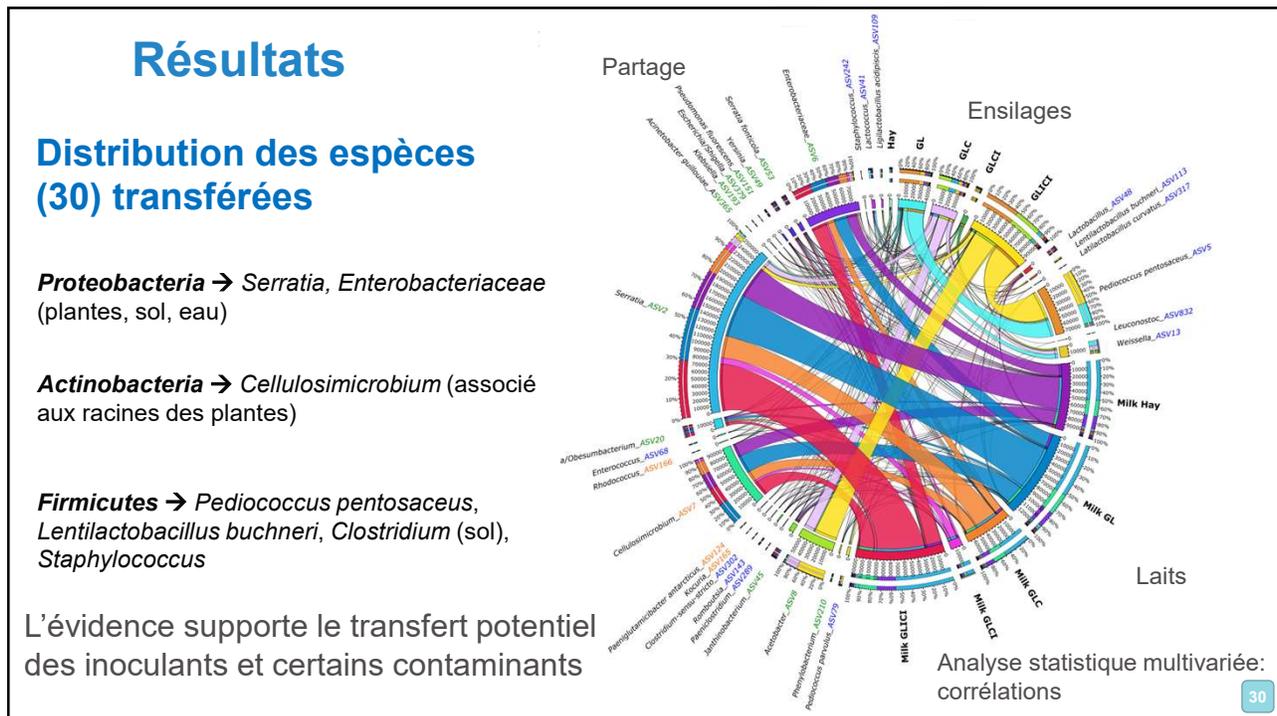


28

Mettre en valeur la typicité du fromage au lait cru

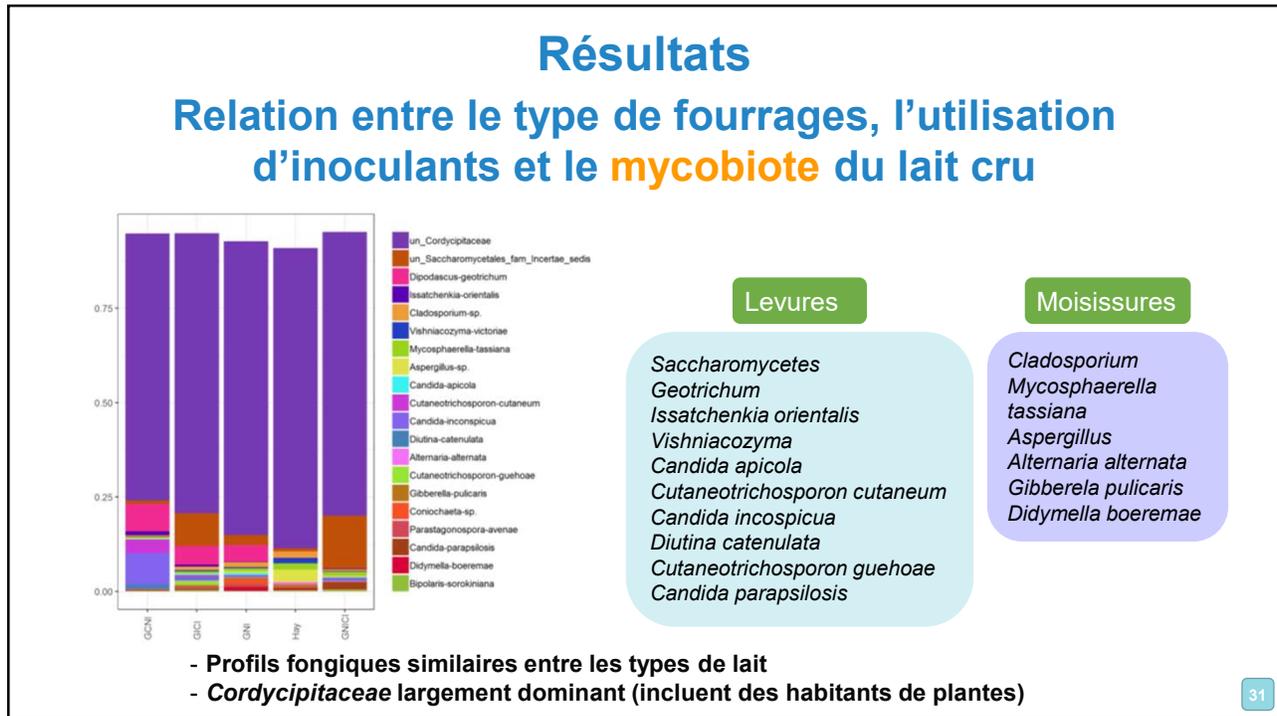


29

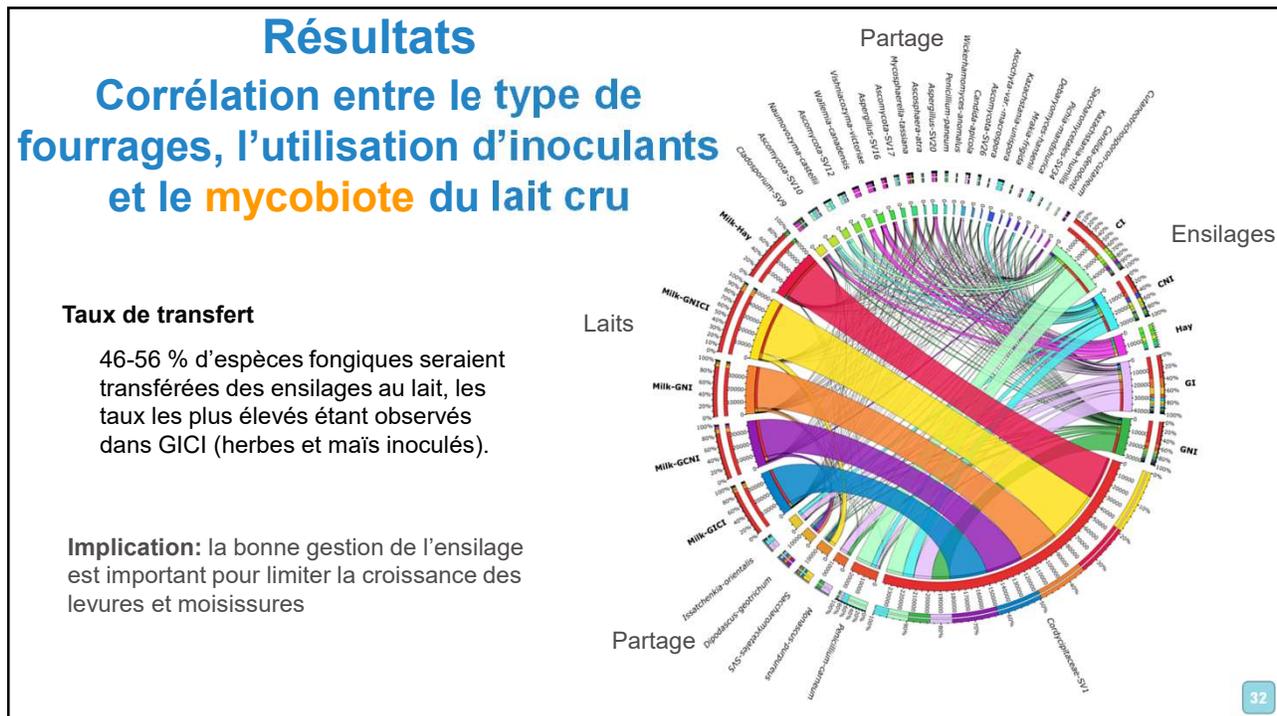


30

Mettre en valeur la typicité du fromage au lait cru



31



32

Mettre en valeur la typicité du fromage au lait cru

Conclusions

- Les rations fourragères se regroupent en 3 types de communauté distinguant foin, herbes ou mélanges herbes/maïs (inoculés ou non)
- Cependant, les laits correspondants ne se regroupent pas
- La saison (automne, printemps) aurait plus d'influence sur le microbiote du lait cru que l'usage des ensilages
- Jusqu'à 31 % d'espèces bactériennes et 56 % d'espèces fongiques du lait proviendrait de la ration fourragère
- Les *Proteobacteria*, et non les LAB, expliquent la différence significative entre les laits provenant d'ensilages inoculés ou non (GLICI et GLC)

33

33

Conclusions générales

- Les bactéries de l'ensilage peuvent être transférées au lait
- La contamination du lait se ferait de manière sporadique
- L'impact des inoculants est difficile à distinguer des autres facteurs
- Les communautés microbiennes du lait cru varient avec les saisons
- La qualité microbiologique du lait cru dépend des bonnes pratiques de gestion à la ferme

34

34

Points critiques



This Photo by Unknown Author is licensed under CC BY-NC



- **Qualité de l'alimentation animale**
 - Bonne gestion de l'ensilage
 - Infiltration d'eau; oxygène augmentent les pertes
 - détérioration aérobie par les moisissures encouragent les bactéries indésirables
- **Qualité du lait avant d'arriver à l'usine:**
 - L'intérieur du pis: santé animale, contrôle de la mammite
 - L'extérieur du pis: humidité de la litière, pratiques de nettoyage des trayons
 - Après la sortie du pis: maintien et l'assainissement du système de traite, temps de refroidissement, transport et entreposage du lait; l'eau de lavage

35

35

A venir...




Effets sur l'affinage des fromages

- *Lactobacillaceae* : source de saveur ou de gaz?
- Bactéries homofermentaires: protéolyse contribuant à la production de volatiles (*Lacticaseibacillus paracasei*)
- Bactéries hétérofermentaires : pas nécessairement des inoculants; d'autres espèces causent des défauts attribués au gaz (fissures, gonflement d'emballage)
- Bactéries sporulantes: production de gaz (*Clostridium*, *Paenibacillus*)




36

36

Mettre en valeur la typicité du fromage au lait cru



37