

# CAUSERIE FROMAGÈRE

8 avril 2025

De 14h00-15h30

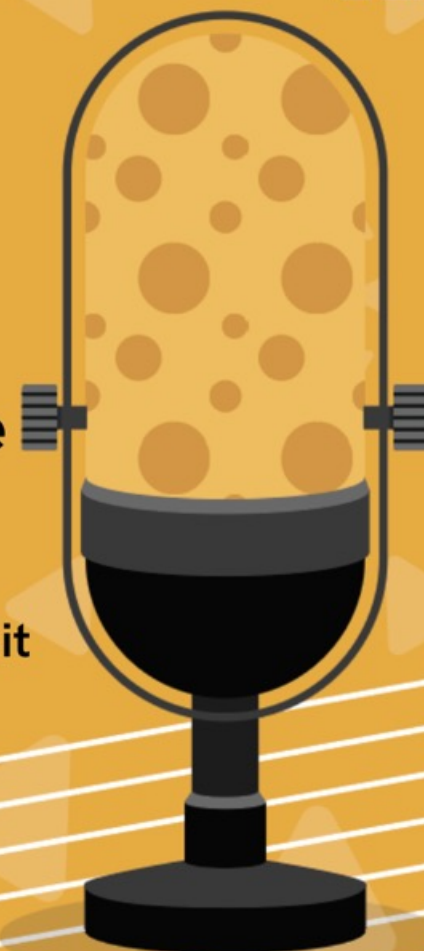
**Les biofilms: alliés ou ennemis de l'affinage  
des fromages?**

Dr Gisèle Lapointe, chaire de recherche industrielle en  
microbiologie laitière du CRSNG et des producteurs de lait  
de l'Ontario, Université de Guelph

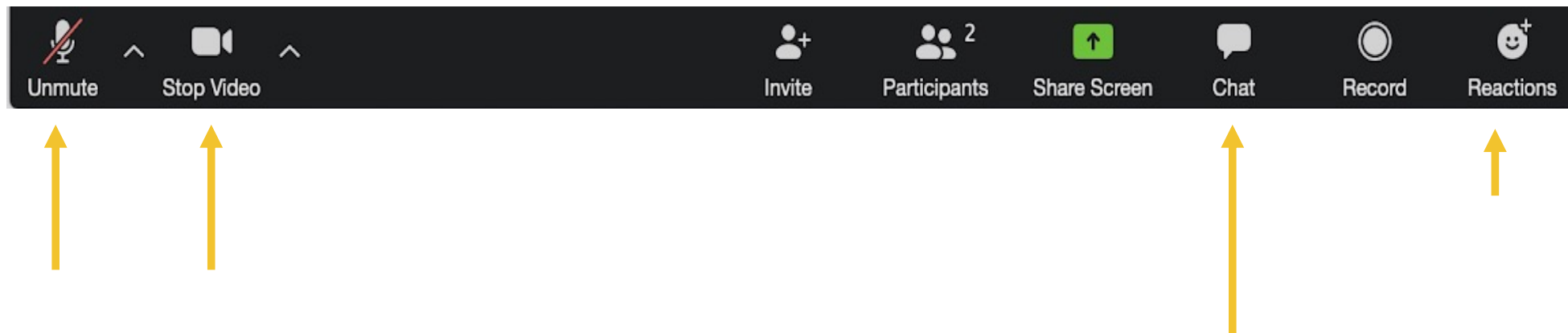
**Novalait**

UNIVERSITY  
of GUELPH

CEFR



# CONSIGNES





Causerie  
CEFQ  
8 avril 2025



## **Les biofilms: alliés ou ennemis de l'affinage des fromages?**

**Gisèle LaPointe**  
**Department of Food Science**  
**University of Guelph**

## *Agenda de la causerie*

- Rappel: biofilms (avril 2023), sources de variation du lait cru des fermes laitières au Québec (février 2024)
- Écologie microbienne de la ferme à la fromagerie sur 6 mois
- Profils des types de microorganismes et leurs origines
- Pause discussion
- Les biofilms: défauts des produits
- Les biofilms: alliés de l'affinage
- Pause discussion



## *Rappel sur les causeries antérieures*

- Biofilms (Julie Jean et Méricie Gagnon, avril 2023)
  - Charge microbienne plus élevée sur les équipements servant à l'affinage
  - Recommande plus d'attention à la qualité de l'eau
  - Action physique de brossage pour des structures complexes (recoins)
  - **Perspective: améliorer les connaissances sur les biofilms bénéfiques ou protecteurs**
- Collaboration Québec-Ontario
  - Équipe au Québec: Denis Roy, Évelyne Guévremont, Méricie Gagnon, Julie Jean, Ismail Fliss



Novalait



Canada



## *Rappel sur les causeries antérieures*

- Sources de variation du lait cru des fermes laitières au Québec (Gisèle LaPointe, février 2024)
  - Projet Novalait et PLC (Denis Roy avec Alexandre Kennang Ouamba et M. Gagnon)
  - Jusqu'à 31 % d'espèces bactériennes et 56 % d'espèces fongiques du lait sont partagées avec la ration fourragère
  - La ferme peut être une source de bactéries psychrotrophes, lipolytiques et protéolytiques, formant des biofilms

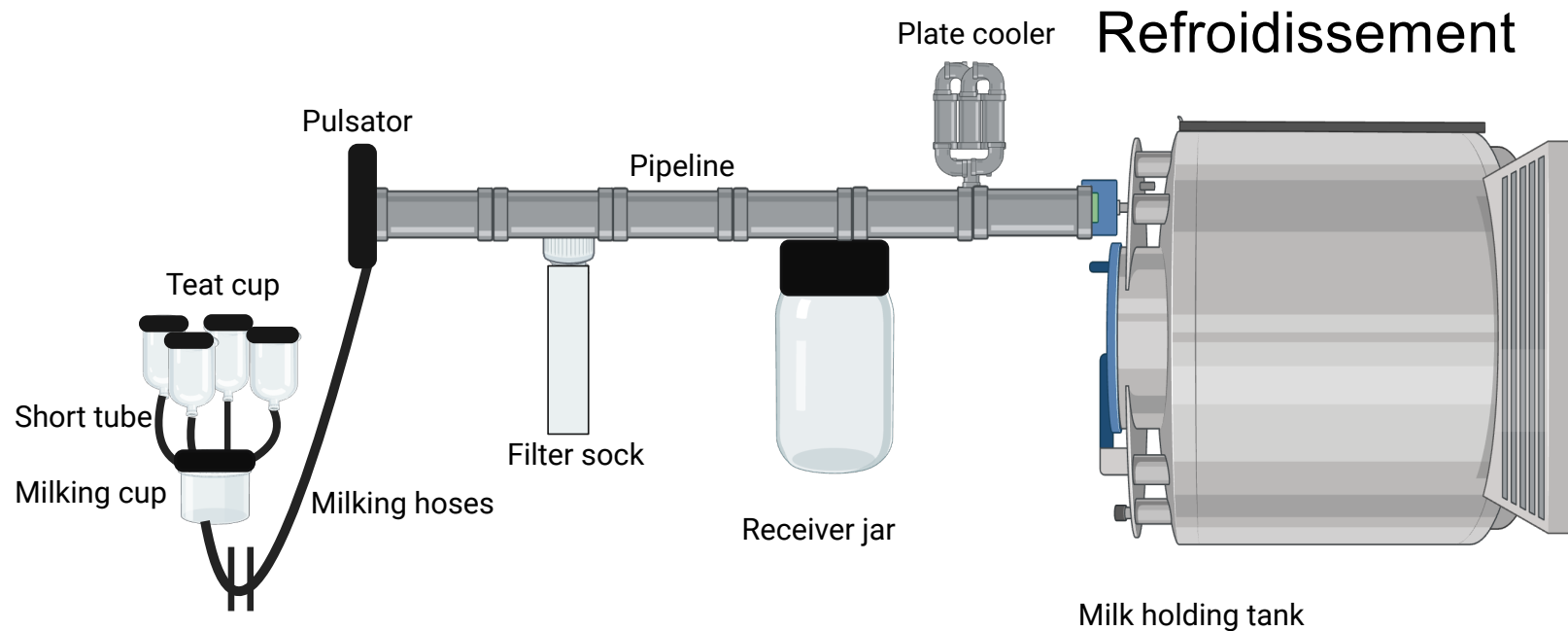
# Microbiote du lait cru



Chaque écosystème contribue des microbes qui peuvent être transférés au lait cru pour influencer la qualité du produit final:

- Innocuité
- Altération
- Durée de conservation
- Flaveur

# Systemes de traite: points critiques

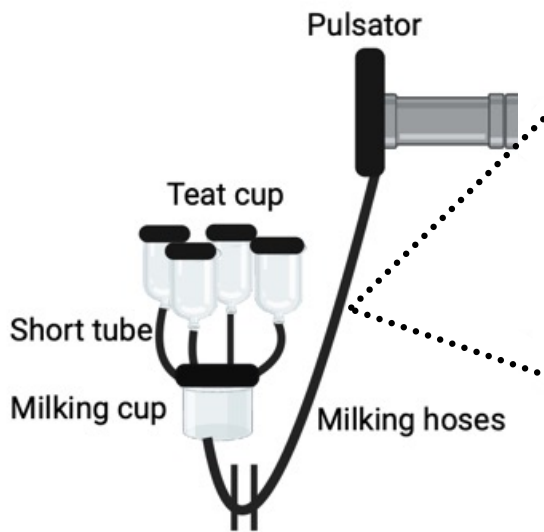


Matériaux (tuyaux et joints):

Caoutchouc silicone

(remplacement selon recommandations et inspection visuelle)

## Matériaux divers



Griffe: polysulfone

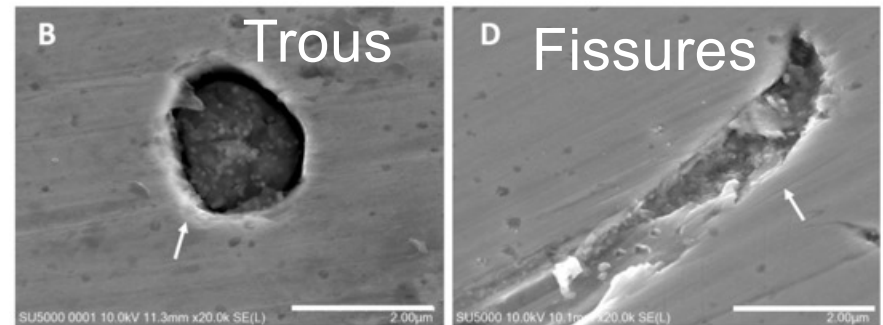
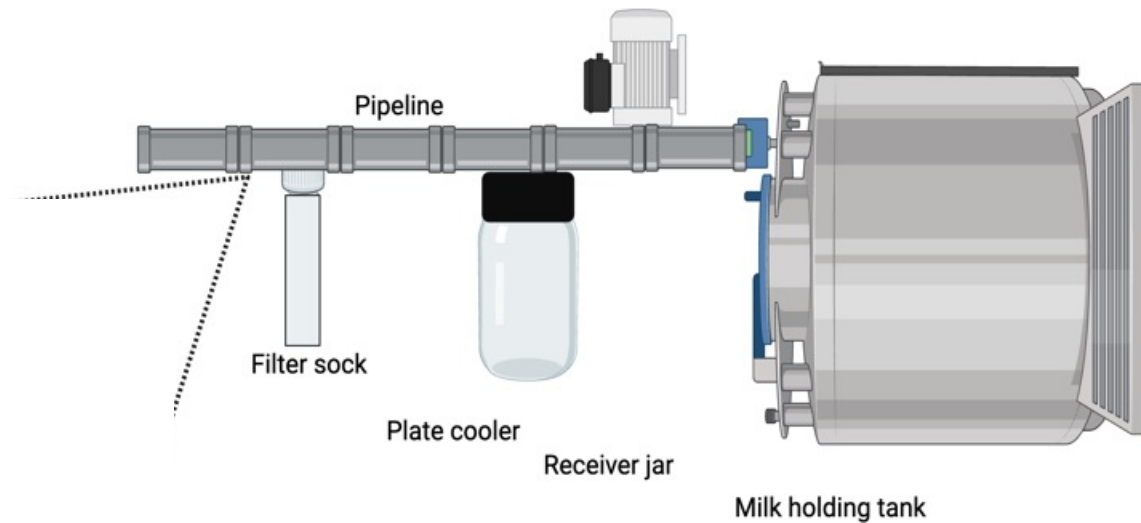
Tuyaux: caoutchouc silicone, nitrile, polyvinyl chloride

Joints: polytetrafluorethylene (PFTE), nitrile, EPDM (Ethylene Propylene Diene Monomer)

- Les tuyaux (silicone) et joints (PFTE) dans le système de traite
- Hydrophobe: énergie libre négative
- Dégradation par la chaleur et l'âge: niches pour le dépôt de protéines et les microbes pour éviter la turbulence du nettoyage

## Acier inoxydable

- Finition et grades variés: grade alimentaire (304 et 316)
- Résistance chimique: alliages de fer, chrome, nickel et titane
- Usure avec le temps; permet l'adhérence des microbes
- Corrosion induite par les microbes causée par la dépolarisation cathodique (réactions oxido-réduction)

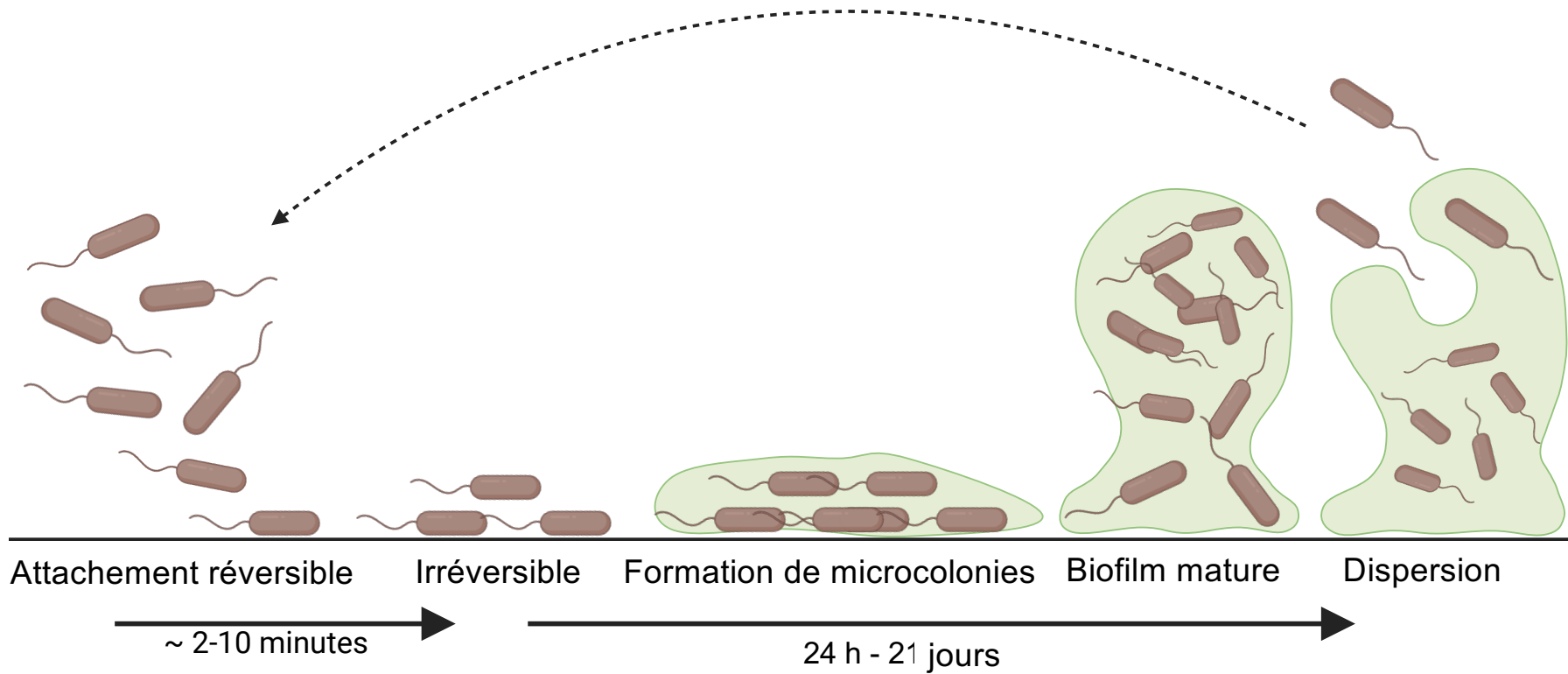


## Système Pilotraite

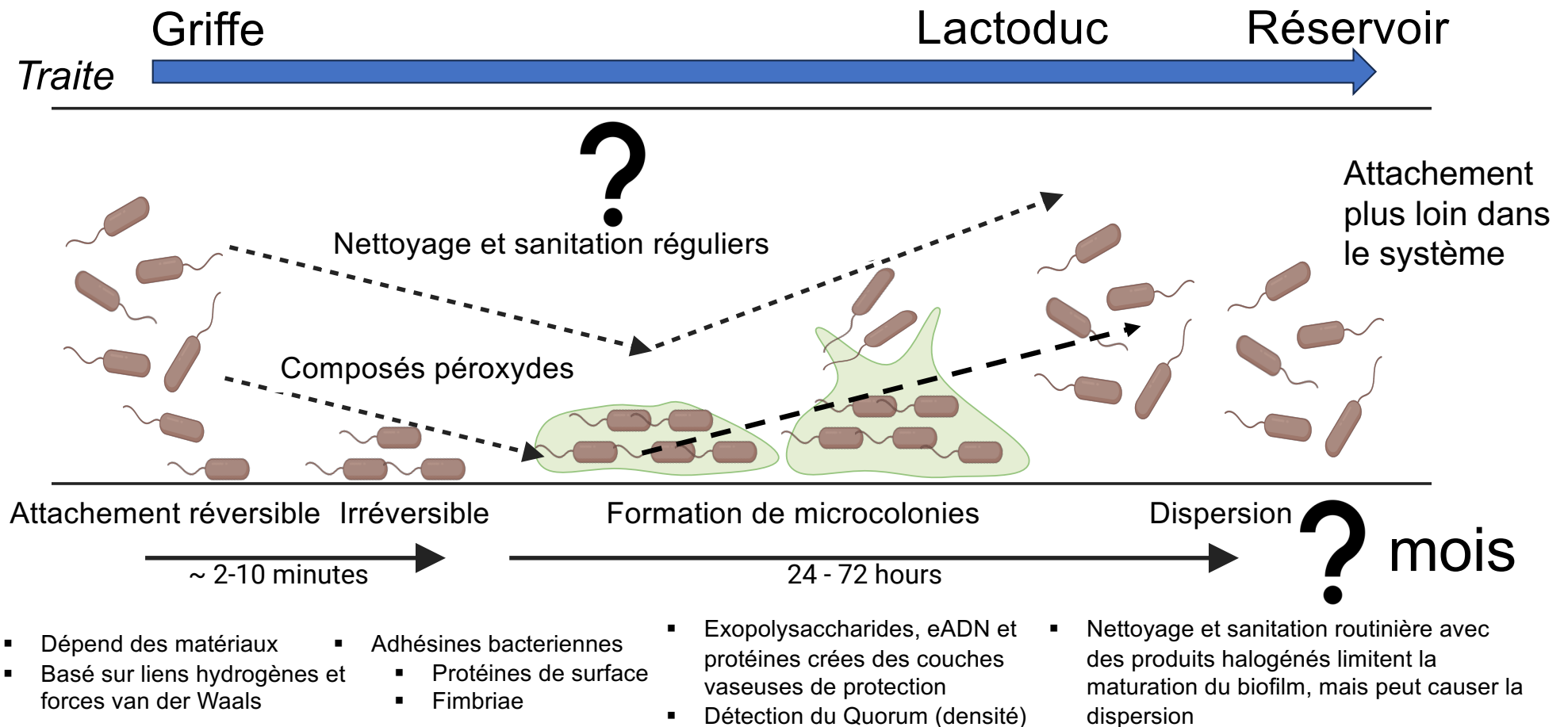


<https://doi.org/10.3168/jds.2024-25352>

# Étapes de formation de biofilms



# Étapes de formation de biofilms dans le système de traite



## *Ce qu'on connaît...*

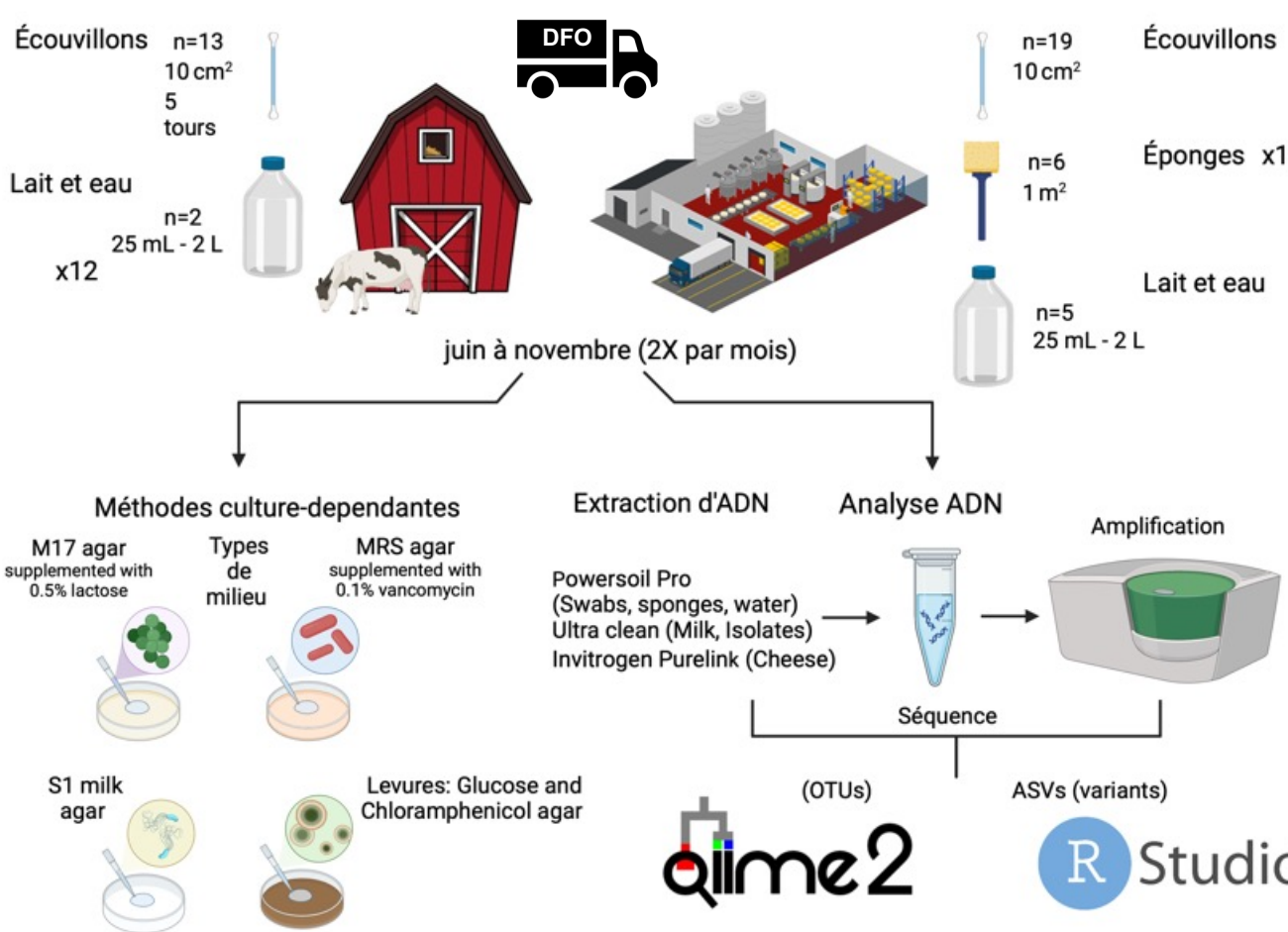
- Certaines des espèces retrouvées dans le lait de ferme sont très bien connues pour la formation de biofilms:
  - *Pseudomonas* (aime le froid: contamination post-pasteurisation)
  - *Streptococcus* et *Staphylococcus* (peuvent aimer la chaleur)
  - *Lactococcus* (aide à l'acidification et la coagulation du lait)
- Biofilms résidents dans le système de traite (Laithier et al., 2024): résistants aux procédures rigoureuses de nettoyage (PiloTraite)
- Les bactéries résiduelles pourraient contaminer le lait de la traite suivante;
- Les biofilms diminuent l'efficacité du nettoyage et de la sanitation: nettoyer avec TACT, éviter l'eau stagnante

# *Quelles bactéries sont transférées entre la ferme et une fromagerie artisanale?*

- 1. Étude longitudinale sur 6 mois:** une seule source de lait utilisée pour la fabrication de fromage artisanal.
- 2. Évaluation de la diversité microbienne:** lait, source de l'eau de lavage, écouvillons du système de traite.

Wilson, T., M. Siddiqi, Y. Xi and G. LaPointe. 2024. Tracking the microbial communities from the farm to the processing facility of a washed-rind cheese operation. *Frontiers in Microbiology*, 15:1404795.

# Étude longitudinale d'une ferme et une fromagerie artisanale

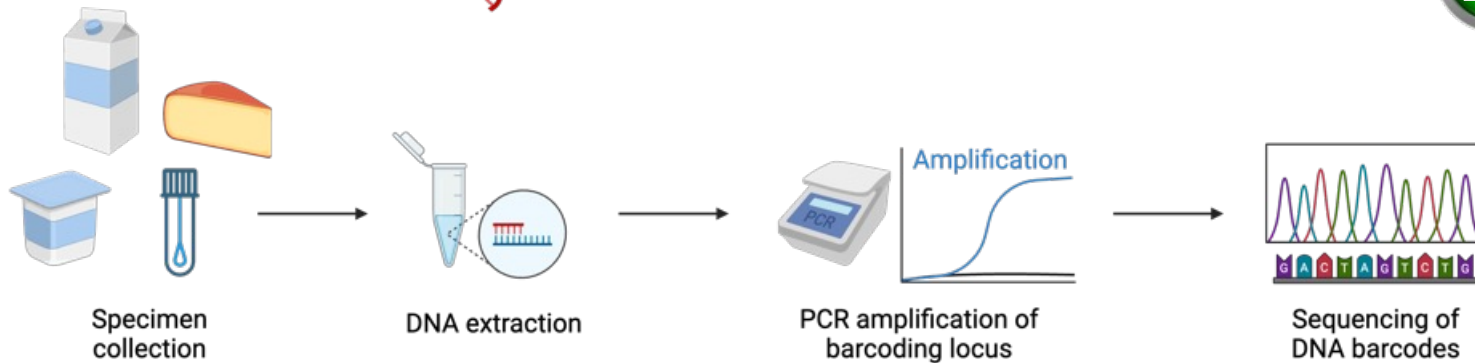


Après sanitation

- Écouvillons n=19  
10 cm<sup>2</sup>
- Éponges x12 n=6  
1 m<sup>2</sup>
- Lait et eau n=5  
25 mL - 2 L
- Six mois d'étude d'une ferme qui fournit le lait de vache pour une fromagerie
- Analyses culture-dépendantes et culture-indépendantes pour obtenir les profils de microbes dans le système de traite après nettoyage:
  - ✓ écouvillons
  - ✓ eau (2 L)
  - ✓ lait cru

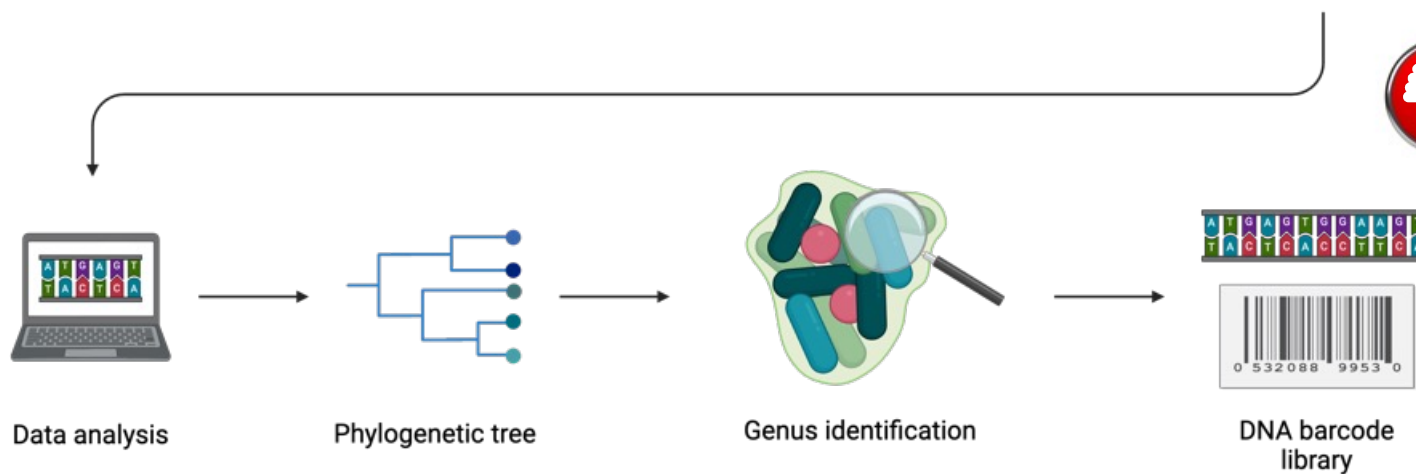
# Séquence de l'ADN de la communauté microbienne

## Code barre



Avantages:  
Cout faible  
Nombre élevé

Amplicon du  
gène ARNr 16S  
conservé

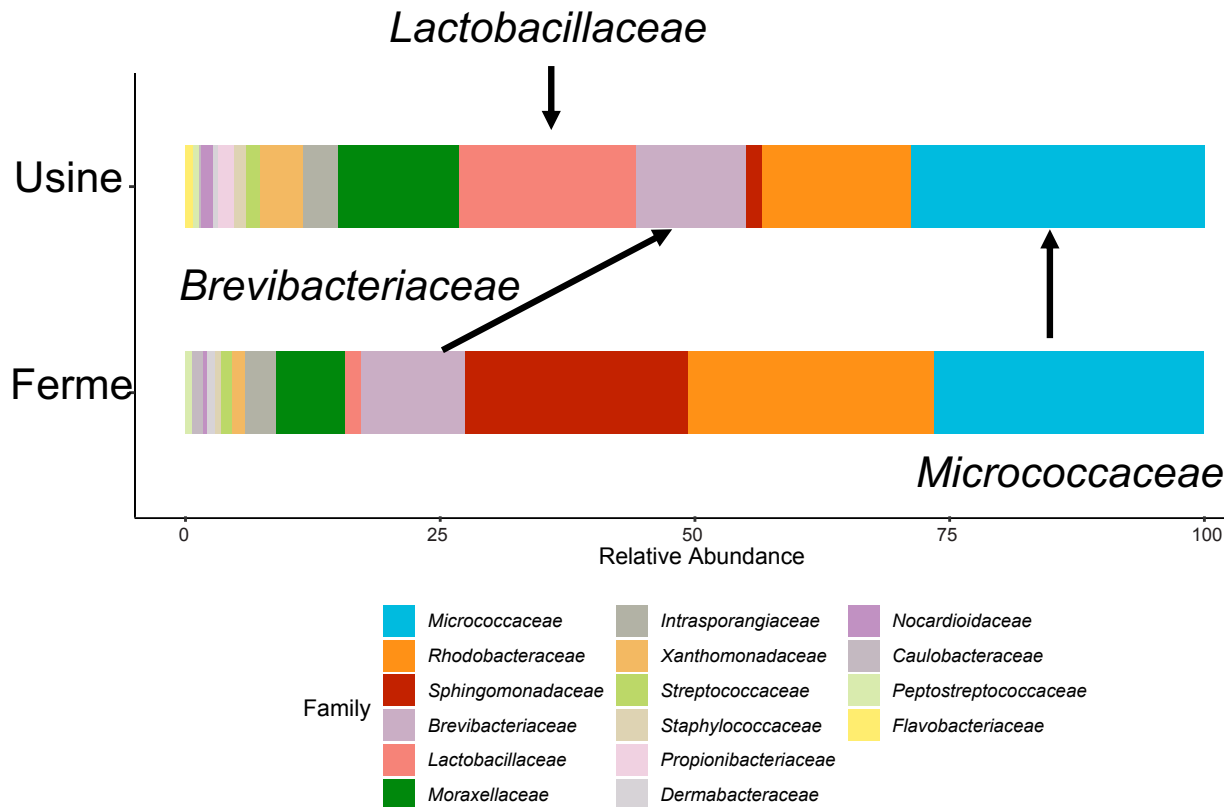


Désavantage:

Résolution  
limitée à la  
famille &  
le genre

Vivant ou Mort?

## Profil du lait cru



### Méthode culture-dépendante

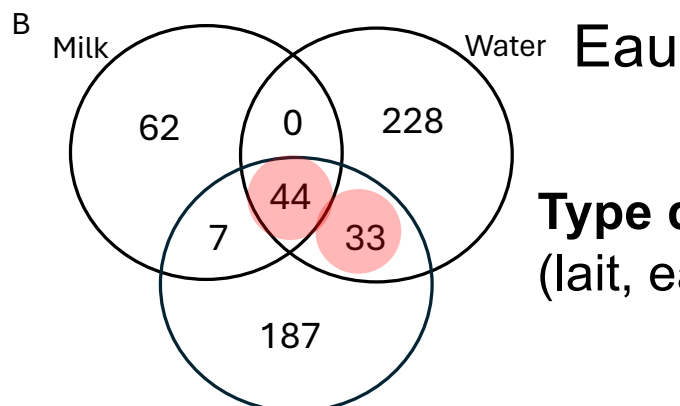
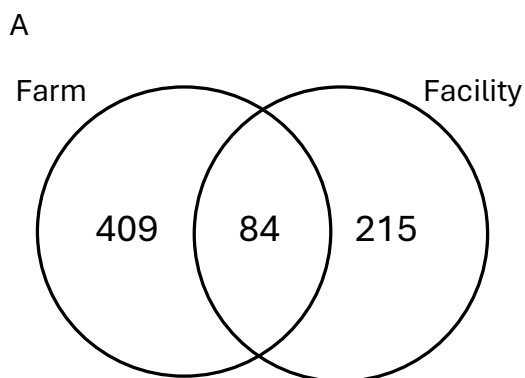
- Comptes totaux inférieur à 50,000 UFC/mL durant l'étude

### Méthode culture-indépendante

- La famille des *Lactobacillaceae* était plus abondant dans le lait à la fromagerie que dans le lait à la ferme
- Les actinobactéries: les familles *Brevibacteriaceae* et *Micrococcaceae* ne changent pas d'abondance entre la ferme et la fromagerie
- Peu de *Pseudomonas* dans le lait cru

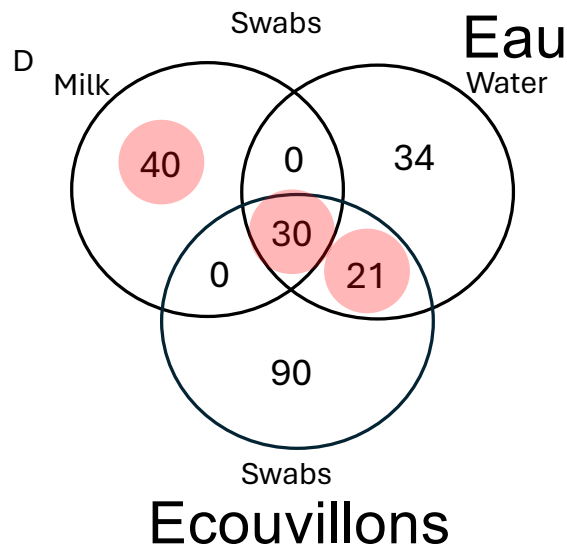
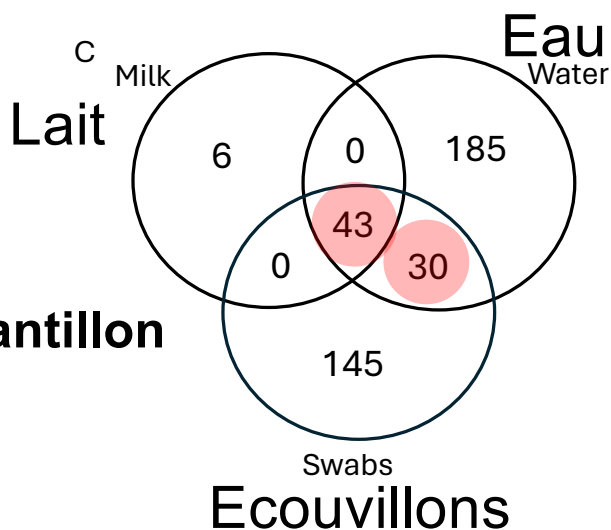
## Nombre de séquences bactériennes partagées ou unique:

Ferme et fromagerie



Type d'échantillon  
(lait, eau et écouvillons)

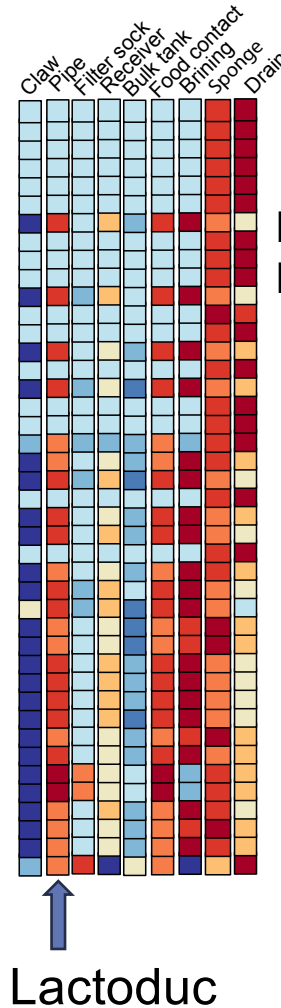
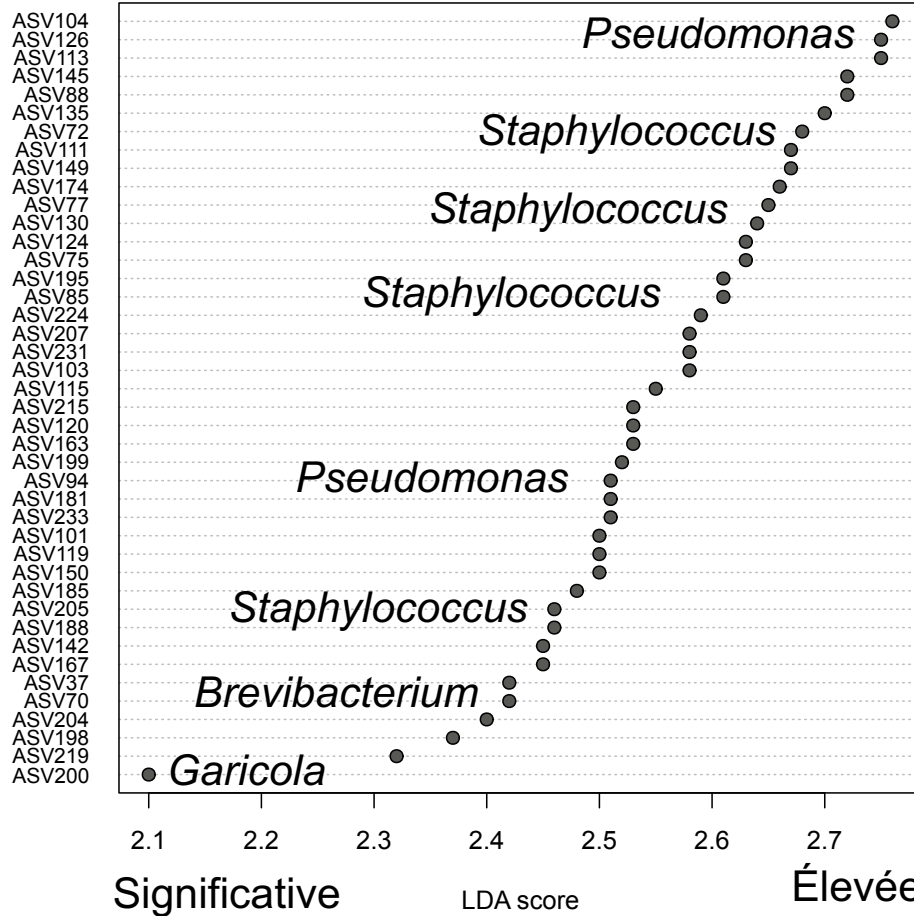
Type d'échantillon  
de la ferme



Type d'échantillon  
de la fromagerie

# Séquences significatives des écouvillons de la ferme à la fromagerie

## Variants



- *Staphylococcus equorum* retrouvé dans le lactoduc
- Bactéries d'affinage dans le lactoduc sont transférées à l'usine
- *Pseudomonas* domine dans le drain et les éponges à l'usine (sources lactoduc et autres)

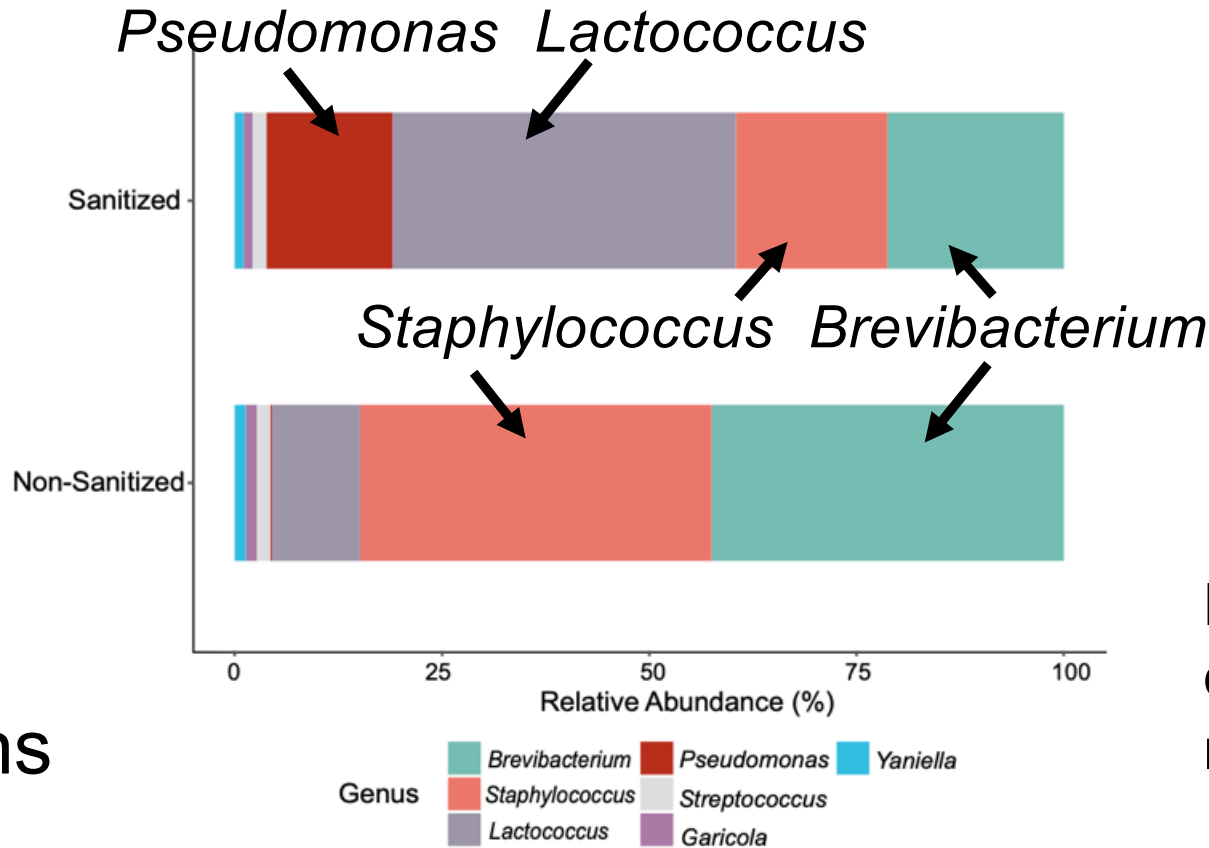
Linear Discriminate Analysis  
Effect Size (LEfSe)

# Abondance des bactéries sur les surfaces

Après  
sanitation

Avant  
sanitation

Écouvillons



Mesure  
d'abondance  
relative



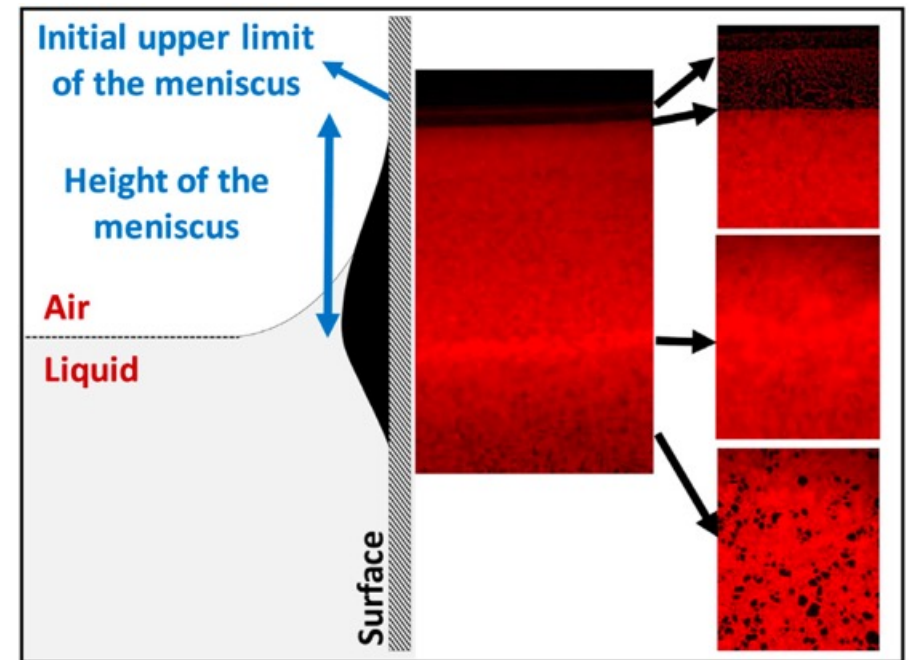
*Saviez vous que?*

L'air peut être important pour la formation de biofilms

## Formation de biofilms sur les surfaces: submergée ou non?

Biofilms submergés versus à l'interface air-liquide-surface

- Bactéries aérobies ou anaérobies facultatives
- *Pseudomonas* et *E. coli*
- *Bacillota*: *Bacillus cereus*
- Espèce et souche dépendante

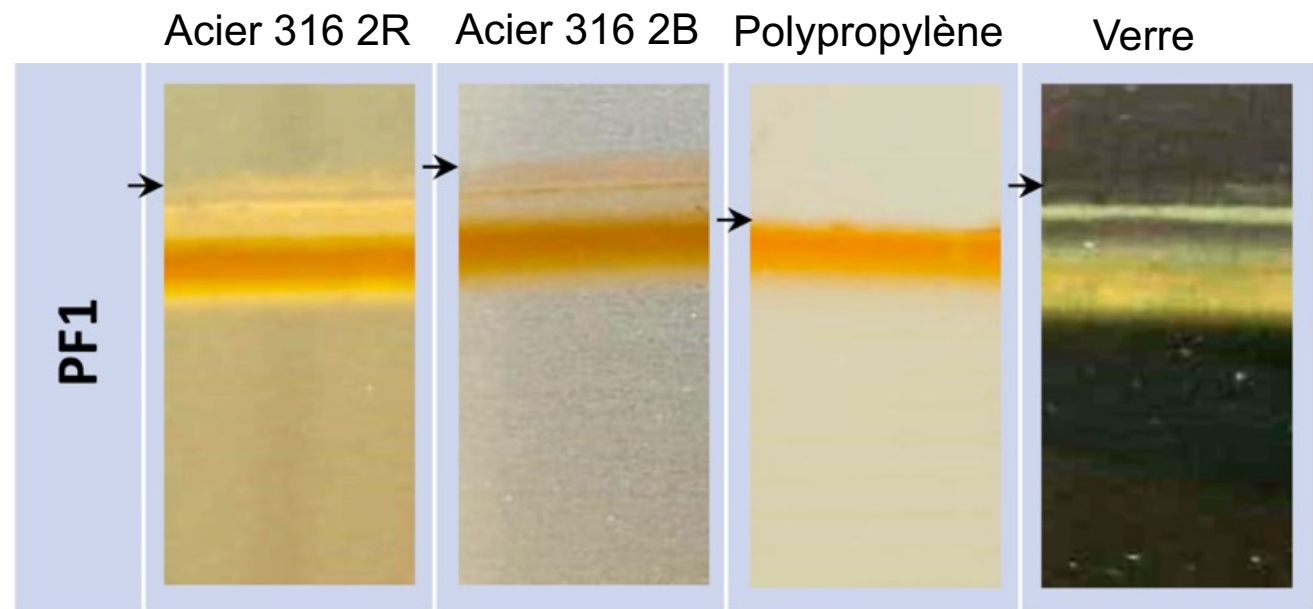


<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107384>

# Biofilms formés à l'interface air-liquide-surface

## Avant nettoyage en place

- *Pseudomonas fluorescens* forme des biofilms sur les 4 matériaux
- Coupons verticaux (interface indiquée par la flèche)



<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107384>

Colorant orange acridine

# Biofilms formés à l'interface air-liquide-surface

## Acier inoxydable

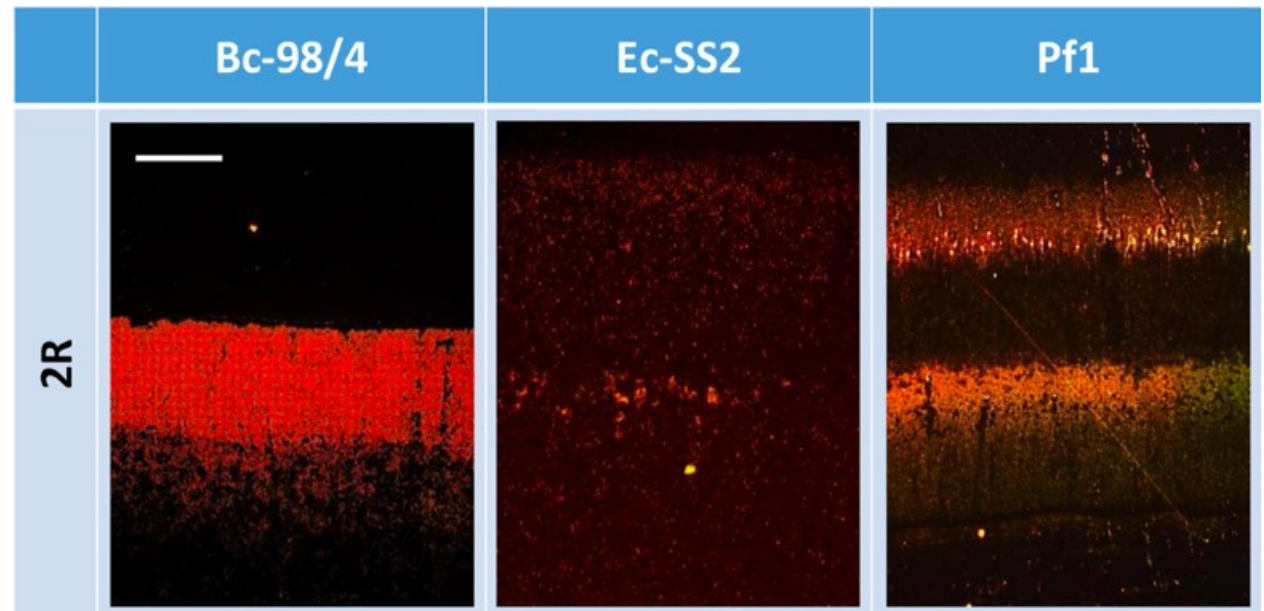
- *E. coli* semble moins capable de résister le nettoyage
- *B. cereus* est la plus résistante

## Après nettoyage en place

*B. cereus*

*E. coli*

*P. fluorescens*



<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107384>

## *Retombées et recommandations*

- Les psychrotrophes, les bactéries lactiques et les actinomycètes en biofilms sont capables de résister aux procédures de nettoyage pour former la flore de l'usine.
- La fréquence du nettoyage complète des drains est importante; purger et sécher.
- Est-ce que les microbes résidants incluent des espèces bénéfiques à l'affinage du fromage?
- Est-il possible de gérer la composition des biofilms?

## *Qui travaille sur la gestion des biofilms? Équipe française!*

- La décontamination sélective: remplacement des agents de nettoyage.
- Sulfate de sodium ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ )
  - Alcalin pH 11,9 avec 10%  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  préserve partiellement la flore lactique, éliminant la flore d'altération, et les pathogènes (*S. aureus* et *L. monocytogenes*).
- Problèmes en application sur des fermes commerciales (nécessite un produit prêt à appliquer; souches naturelles, pas de laboratoire).
- Besoin de plus de connaissances sur les propriétés d'adhésion des espèces microbiennes et les interactions des bactéries, levures et les moisissures (notion de biocontrôle)



## *Discussion*

**DAIRY**   
at GUELPH



**Novalait**



*Questions?*

# *Fromage ferme à croûte lavée*

Analyse sur 6 mois de la production de fromage artisanale de la ferme à l'usine

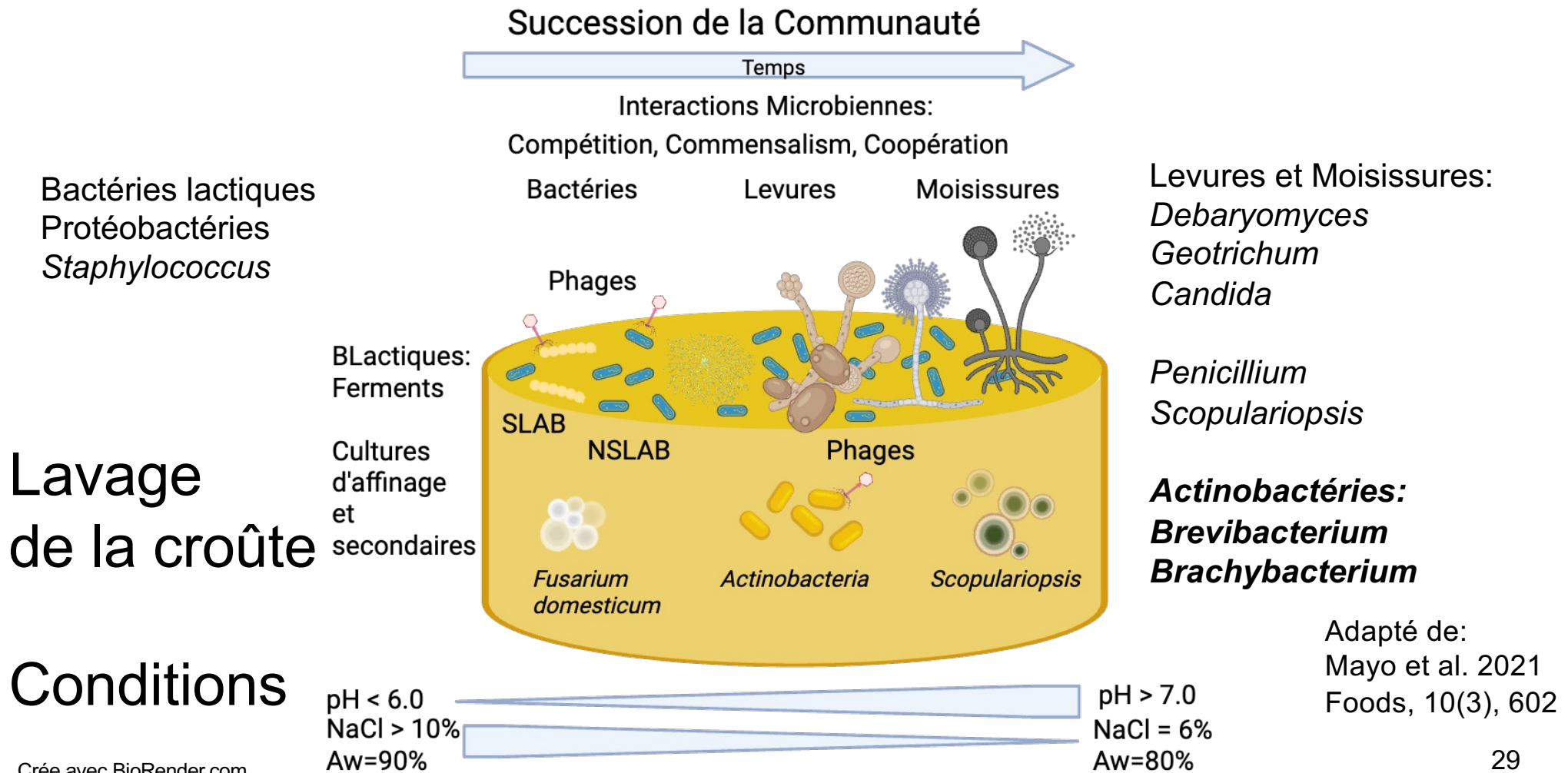
- Types de fromage : grains, Brie, style montagne Suisse (Appenzeller; lait pasteurisé, pas de culture d'affinage)
- Fromage type montagne Suisse affiné sur des planches de cèdre (8 mois)
- La fréquence de lavage des croûtes diminue avec l'âge:
  - chaque 2<sup>e</sup> journée jusqu'à 2 mois;
  - chaque 3-5 jours entre 2 et 5 mois,
  - chaque 5-7 jours après (5 à 8 mois).



Tara Wilson



# Fromage à croûte lavée: affinage et altération

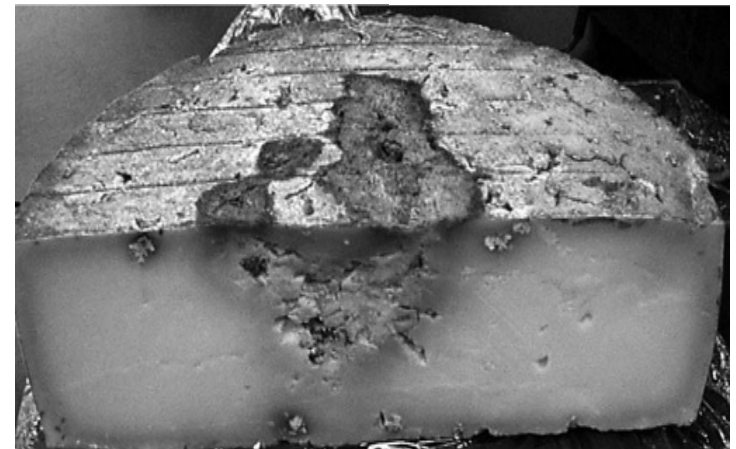


# Fromage à croûte lavée: défauts

- *Scopulariopsis flava*
- *Scopulariopsis fusca*



Microscopie optique (100X) d'un isolat de *Scopulariopsis* collecté de la croûte d'un fromage à défaut  
Milieu gélosé à l'extrait de malt (MEA)  
incubé à 25°C, 75% HR pour 5 jours.



Tara Wilson

Microbialfoods.org

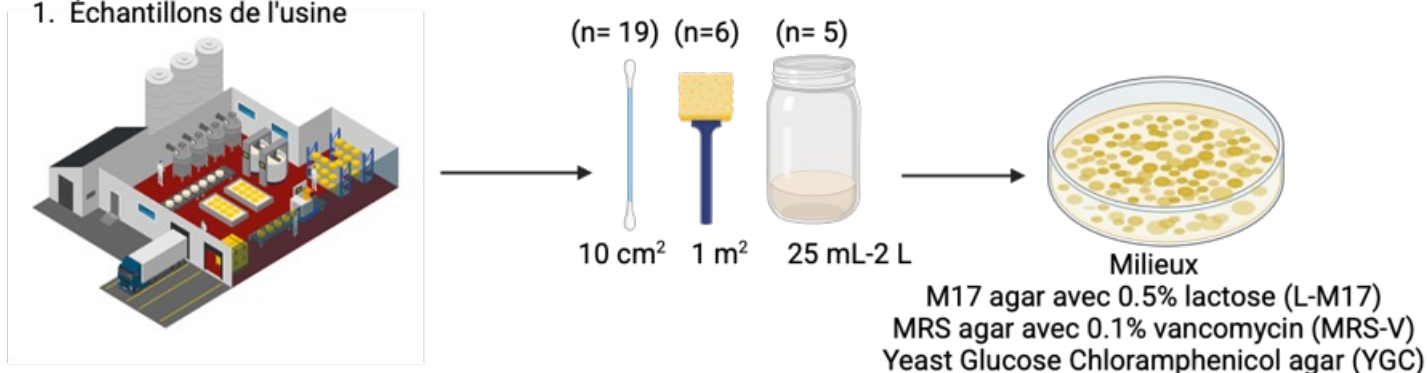
Marcellino & Benson, 2013

Marcellino O.S.B. SN.Benson DR. 2013. The Good, the Bad, and the Ugly: Tales of Mold-Ripened Cheese. Microbiol Spectr 1:1

[doi:10.1128/microbiolspec.CM-0005-2012](https://doi.org/10.1128/microbiolspec.CM-0005-2012).

# Fromage à croûte lavée: affinage et altération

## 1. Échantillons de l'usine

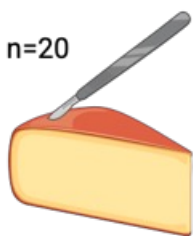


juin - novembre (deux fois par mois)

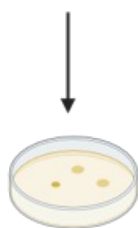
2. Collection d'isolats Milieux: Potato Dextrose Agar (PDA), Agar extrait de malt (MEA);  
Tryptic Soy Agar + 4% Sodium (TSAS)

Méthodes  
culture-dépendantes  
et indépendantes

n=20

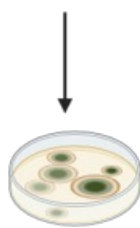


Croûte 2 mois



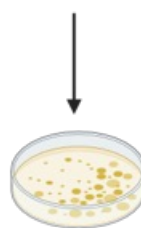
13 *S. xylosus*  
5 *Penicillium* sp.

5 mois "défaut"



11 *Scopulariopsis flava*  
7 *S. xylosus*  
2 *Penicillium* sp.

5 mois "bon"



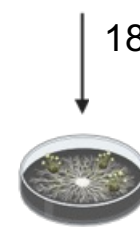
10 *S. equorum*  
7 *S. xylosus*  
2 *Penicillium* sp.  
1 *Debaryomyces* sp.

8 mois "bon"



11 *Brachybacterium*  
6 *Brevibacterium* sp.  
2 *S. xylosus*  
1 *Penicillium* sp.

Croûte défaut

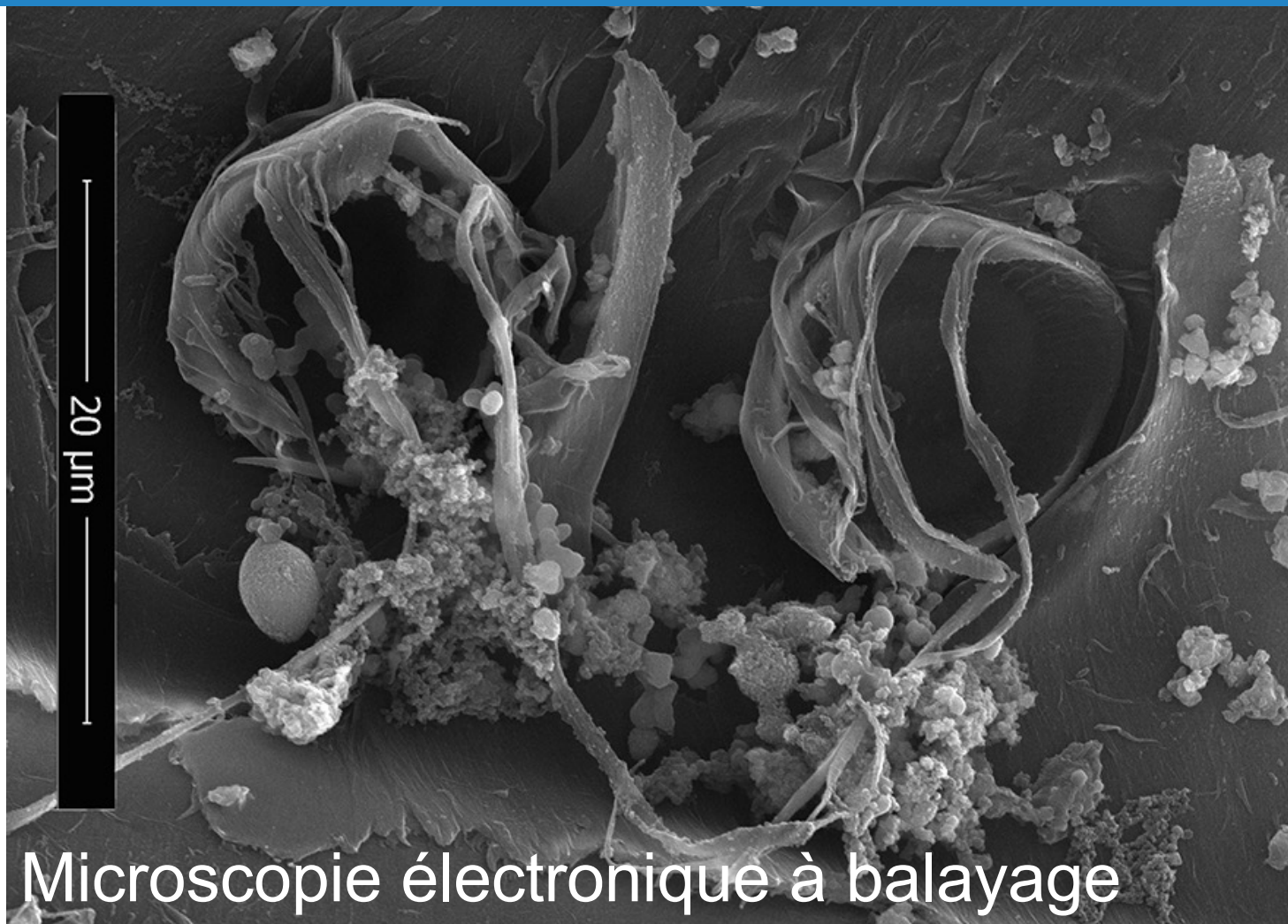


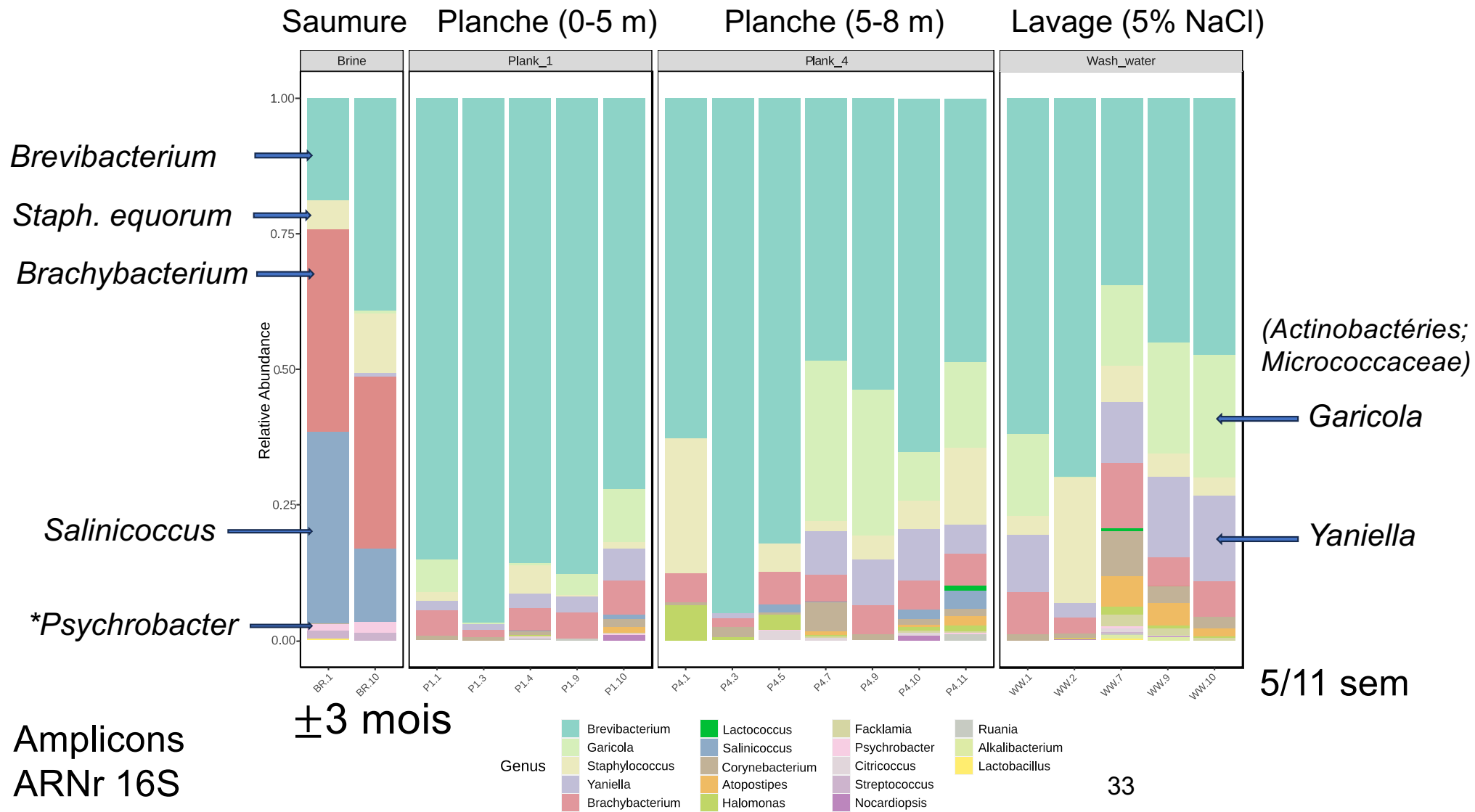
18 isolats  
12 *Scopulariopsis fusca*  
3 *Aureobasidium* sp.  
3 *S. equorum*

*Staphylococcus*  
*Brevibacterium*  
*Brachybacterium*

Défauts:  
*Scopulariopsis*  
*Aureobasidium*

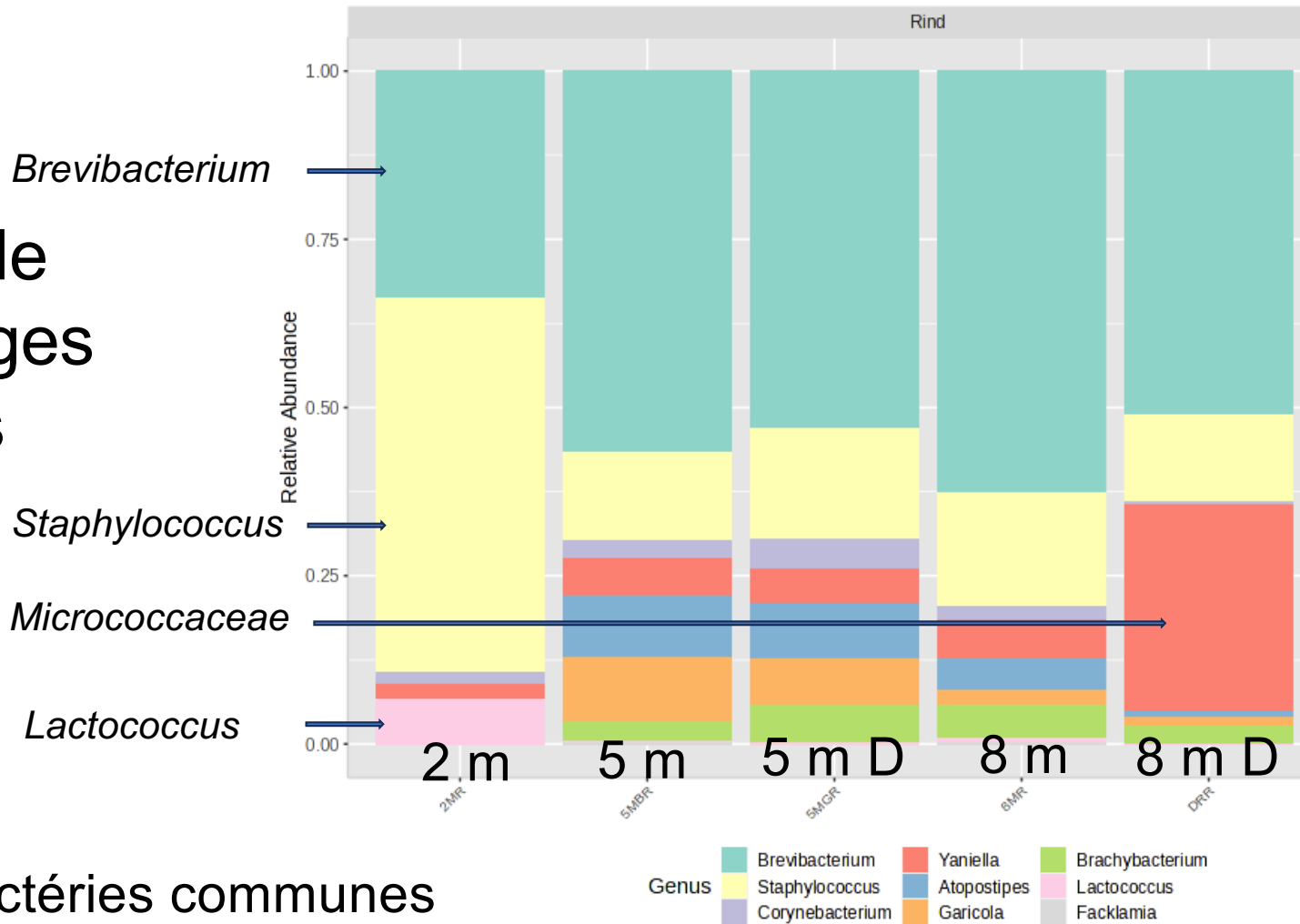
## *Affinage de fromage: planche de cèdre*





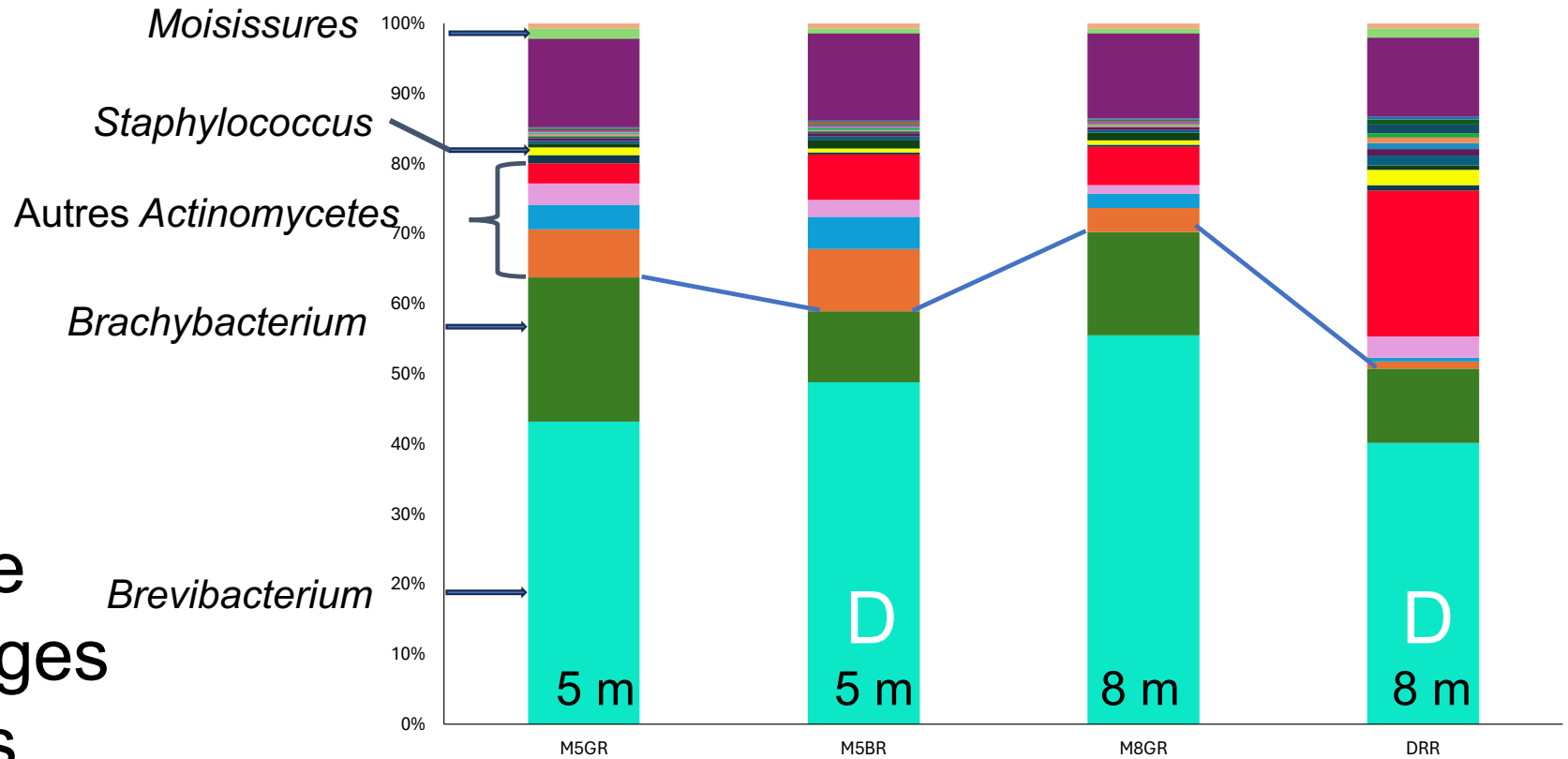
# Affinage et altération des fromages: Bactéries

Croûtes de  
20 fromages  
combinés



Amplicons  
ARNr 16S: Bactéries communes

# Affinage et altération des fromages: tous



Croûte de  
20 fromages  
combinés

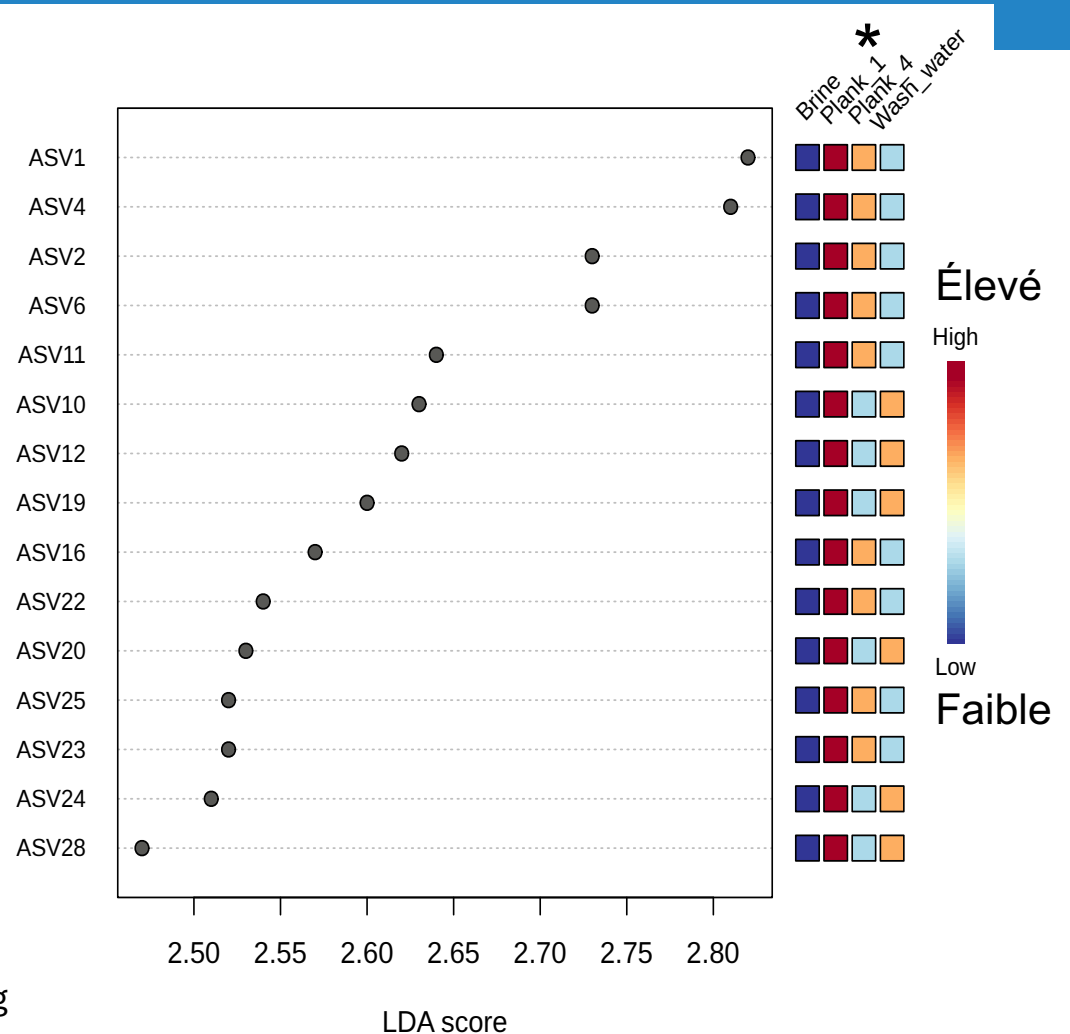
Métagénomique

# Affinage

- Variants *Brevibacterium* (ASV=espèce)
- Diversité: certains variants survivent dans la solution de lavage des fromages
- Planches avec fromages jeunes contiennent plus de séquences que les planches avec les fromages plus affinés (fréquence de lavage réduite)

Linear Discriminate Analysis Effect Size (LEfSe) of 16S rRNA gene amplicons from swabs of the ripening environment ( $P < 0.1$ , LDA score over 2)

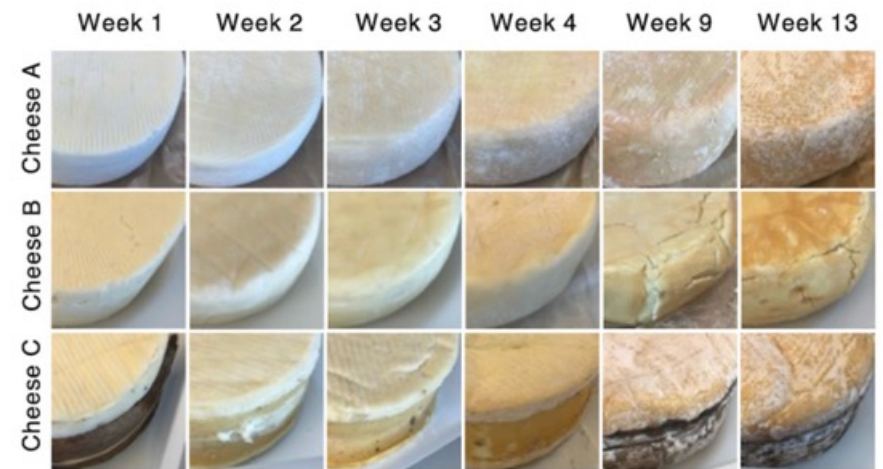
## *Brevibacterium* spp.



# Fromage à croûte lavée: microbiote de surface

## Complexe:

- Interactions bactérie-levure-moisissure :
  - la couleur et la texture
- Bactéries
  - *Brevibacterium* spp. (*linens* et *aurantiacum*)
  - *Brachybacterium alimentarium*
  - *Staphylococcus* (*equorum* et *xylosus*)
- Levures:
  - *Debaryomyces hansenii*
  - *Saccharomyces*
  - *Yarrowia lipolytica*
- Moisissures:
  - *Scopulariopsis flava* (blanche)
  - *Scopulariopsis fusca* (centre noir)
  - *Penicillium* spp.
  - *Fusarium* spp.
  - *Aspergillus* spp.



Saak et al. 2023. Longitudinal, Multi-Platform Metagenomics Yields a High-Quality Genomic Catalog and Guides an In Vitro Model for Cheese Communities. *mSystems*, vol 8(1)  
<https://doi.org/10.1128/msystems.00701-22>

Défaut pourpre causé par *Psychrobacter*  
(indoles produits par conversion de tryptophane)

# Affinage des fromages à croûte lavée: couleur

## Couleur de la croûte:

- Pigmentation des bactéries (caroténoïdes)
- *Brevibacterium*: orange, jaune, blanche = diversité, activité antifongique, phages
- *Brachybacterium*: blanche
- *Staphylococcus equorum*: jaune




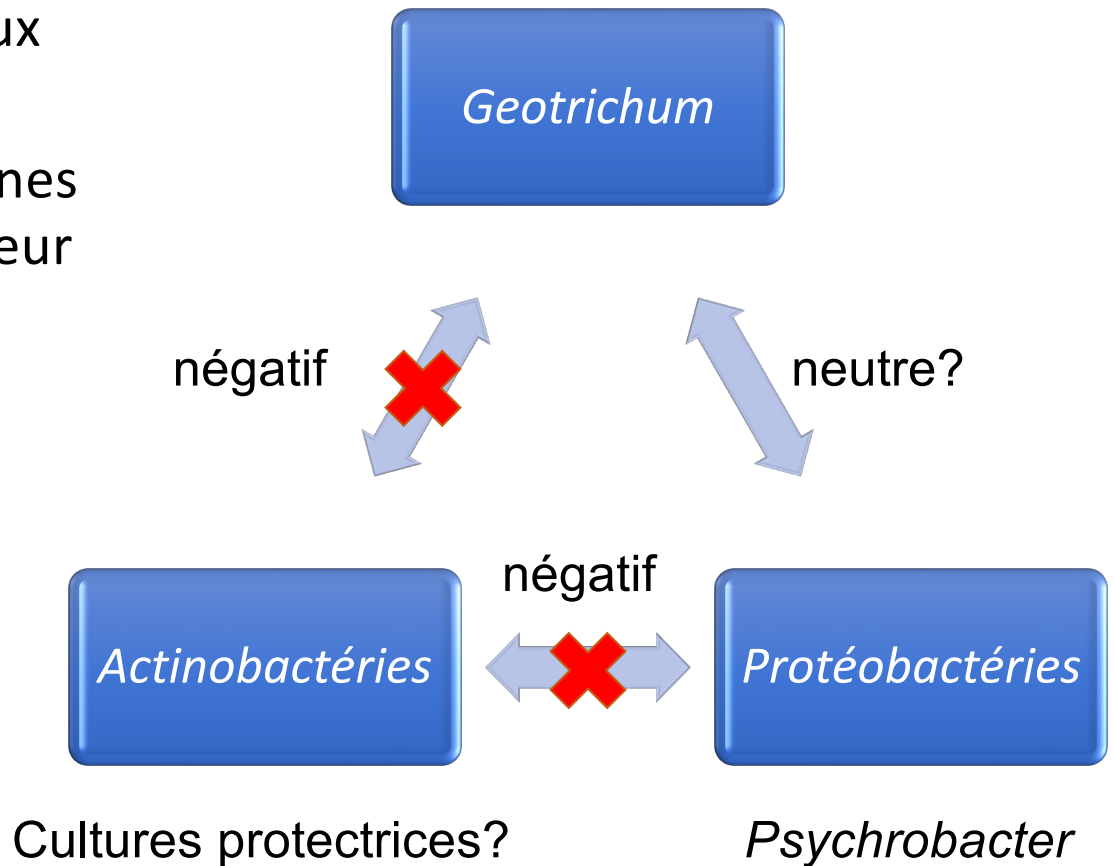
Milieu gélosé TSAS (4% sel)

# Fromage à croute lavée: écologie

- Interactions des levures avec deux groupes de bactéries
- Contrôle de la production d'amines biogènes et des défauts de couleur
- Interactions:
  - *Actinobacteria* ≠ Protéobactéries
  - *Geotrichum* ≠ *Actinobacteria*

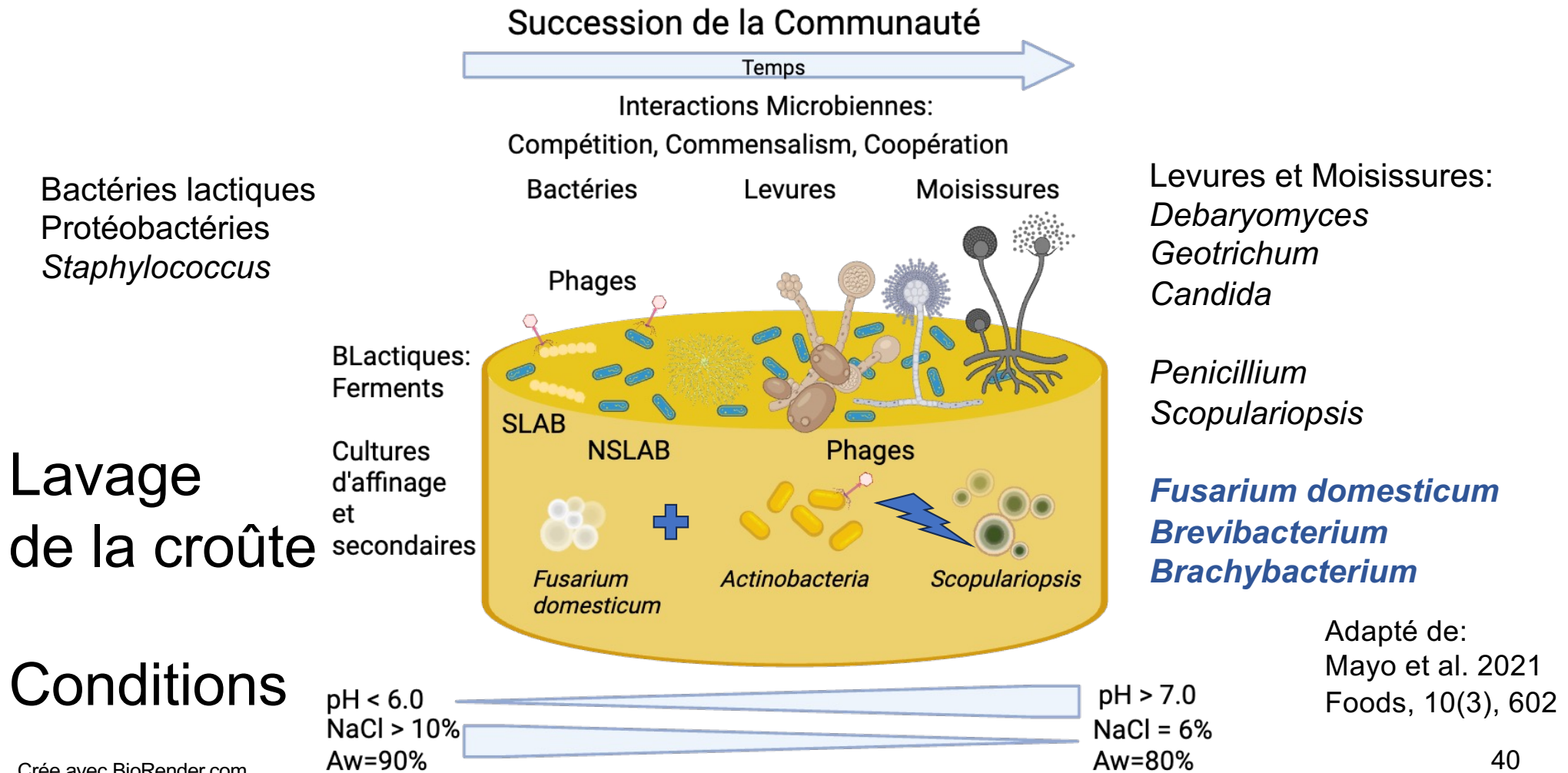
Moisissures?

← négatif? 



(Saak et al. 2023)

# Fromage à croûte lavée: affinage et altération



## *Conclusions et Perspectives*

- Les interactions microbiennes sont responsables de la couleur et de l'altération des fromages
- La ferme et l'usine fournissent des microbes bénéfiques à l'affinage et à la typicité
- Les biofilms auront toujours deux faces possibles: alliés et ennemis, mais obstinément présents
- Plus de connaissances sur ces interactions nous permettront d'adapter les procédures de nettoyage et de sanitation aux espèces retrouvées
- L'équipe d'Ismail Fliss: les composés naturels pour le biocontrôle des bactéries sporulantes produisant des gaz (défaut de gonflement)



*Merci!*



**Novalait**

*Questions?*

# CAUSERIE FROMAGÈRE

**7 mai 2025**

De 14h00-15h30

**Créer l'identité visuelle de vos fromages:  
techniques et solutions**

Amélie Curis, directrice de projets, responsable produits, Fromagex  
Adam Komlosy Paradis, directeur des ventes, Fromagex

CEFR

