



Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra

Département fédéral de l'économie,
de la formation et de la recherche DEFR
Agroscope

Lactobacilles hétérofermentaires

Nicolas Fehér, John Haldemann

Groupe de discussion JU-JUBE, Develier le 13 février 2025





Origine

- Bactéries lactiques en forme de bâtonnet présentes naturellement dans l'herbe et le fourrage.
- Fromagerie:
 - Caillettes mal conservées
 - Biofilm à la surface du matériel





Croissance et métabolisme

Facteurs de croissance complexes

- Température : 10 à 48° C
- pH optimale : 5.5 à 6.2 = aiment l'acidité
- Milieu nutritif : Différents glucides : lactose, galactose, glucose, ribose.
Citrate etc. +++
- Acidification: Pouvoir acidifiant plutôt faible
- Résistance à la chaleur: Certaines souches survivent à 62°C pendant plusieurs minutes

Peuvent se multiplier dans le fromage sous presse et au cours d'affinage!



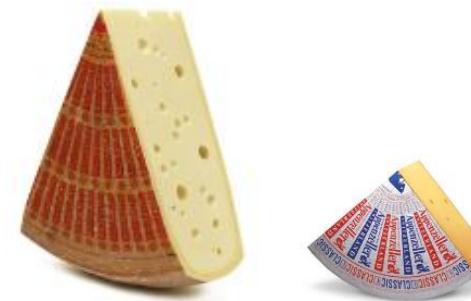
Cultures d'Agroscope avec des Lb. hétérofermentaires



CM 3008: 3 souches *Lb. casei* ssp. *casei*

CM 3010: 1 souche *Lb. casei* ssp. *casei*

CM 3012: 3 souches *Lb. rhamnosus*



Pour la fabrication d'Emmental et des pâtes mi-dures

- Formation d'ouvertures dans les pâtes mi-dures
- Inhibition dans certaines conditions des germes indésirables tels que des bactéries propioniques et des entérocoques
- Diminution des points bruns provoqués par des bactéries propioniques

Leur capacité à former de l'acide est modeste par rapport aux « cultures d'acidification » !



Classification des lactobacilles

Homofermentatrices strictes	Hétérofermentaires facultatifs	Hétérofermentaires obligatoires
<i>Lb helveticus</i>	<i>Lb casei</i> ss <i>casei</i>	<i>Lb fermentum</i>
<i>Lb delbrueckii</i> ss <i>delbrueckii</i>	<i>Lb rhamnosus</i>	<i>Lb brevis</i>
<i>Lb delbrueckii</i> ss <i>lactis</i>	<i>Lb paracasei</i> ss <i>paracasei</i>	<i>Lb parabuchneri</i>
<i>Lb delbrueckii</i> ss <i>bulgaricus</i>	<i>Lb paracasei</i> ss <i>tolerans</i>	<i>Lb buchneri</i>
<i>Lb acidophilus</i>		<i>Lb plantarum</i>

Lactobacilles hétérofermentaires

Groupe de discussion JU-JUBE, Develier, 13.02.25

L'ancien directeur de la Station fédérale de recherches laitières de Berne-Liebefeld Sigurd Orla-Jensen, d'origine danoise, a conçu le premier ouvrage complet sur la systématique des bactéries lactiques. Il a entre autres caractérisé et nommé *Lactobacillus* (*L.*) *helveticus*, *L. casei*, *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* et *L. plantarum*.



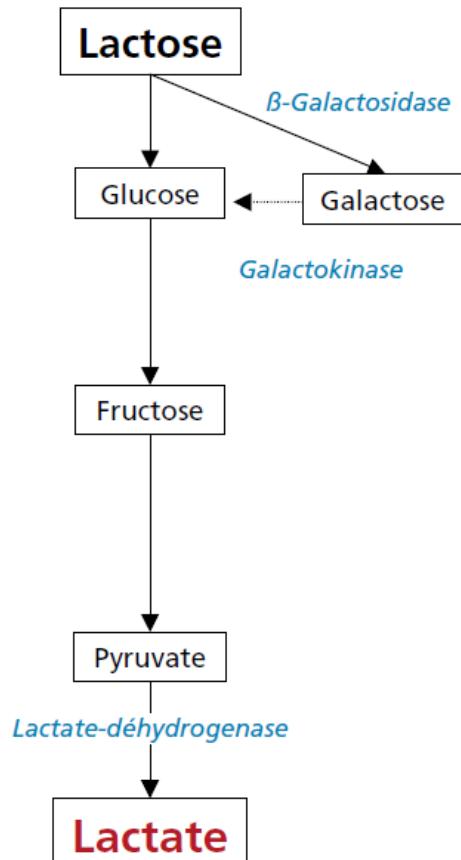
Différences

Lb. hétérofermentaires facultatifs	Lb. hétérofermentaires obligatoires
<ul style="list-style-type: none">• Tendance mésophile• Sont capables, selon la source d'énergie et les conditions de croissance, de réaliser une fermentation homofermentaire ou hétérofermentaire	<ul style="list-style-type: none">• Tendance thermophile• Produisent toujours du CO₂• Métabolisme actif même pendant la fabrication• Tolérant au sel



Lb. hétérofermentaires - les différents métabolismes

Présence de lactose

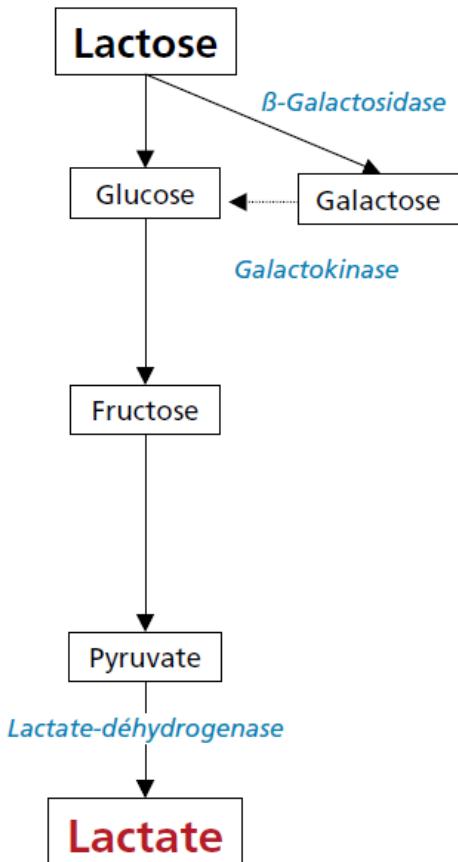


Fermentation
homolactique

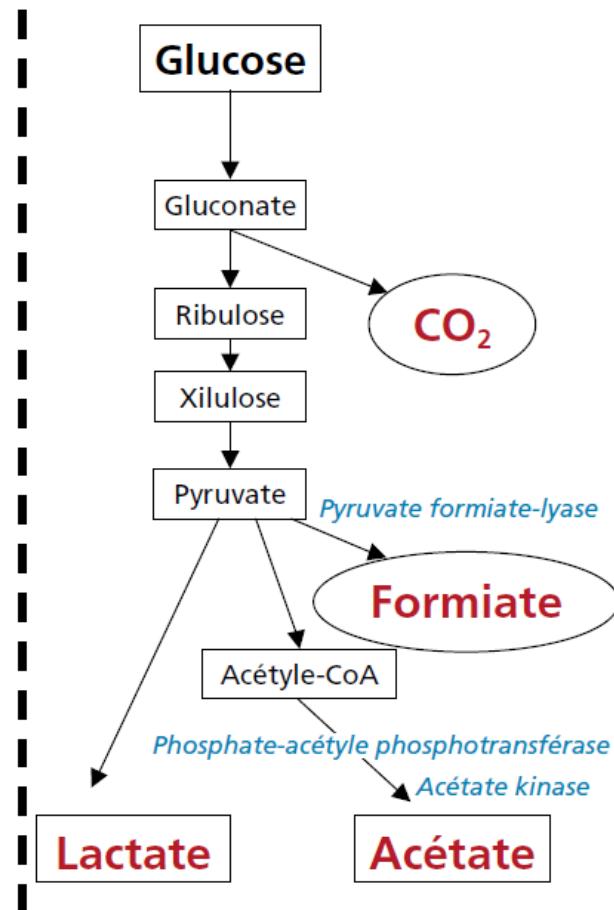


Lb. hétérofermentaires - les différents métabolismes

Présence de lactose



Concentration en sucre limitante



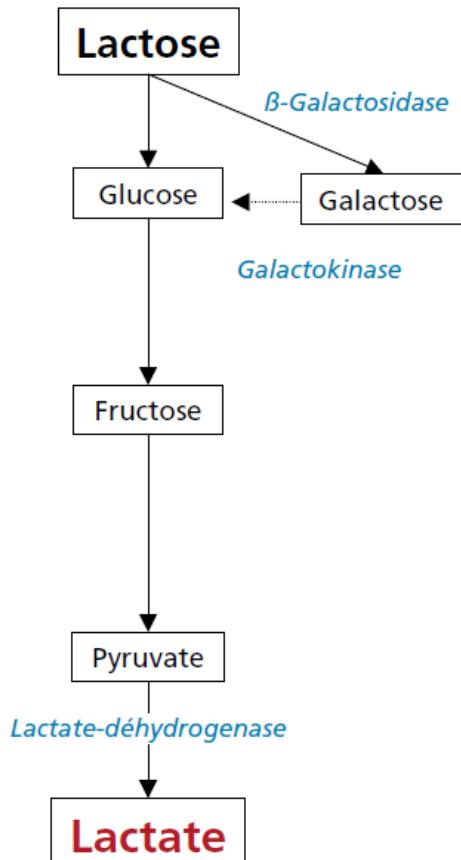
Fermentation homolactique

Fermentation hétérolactique

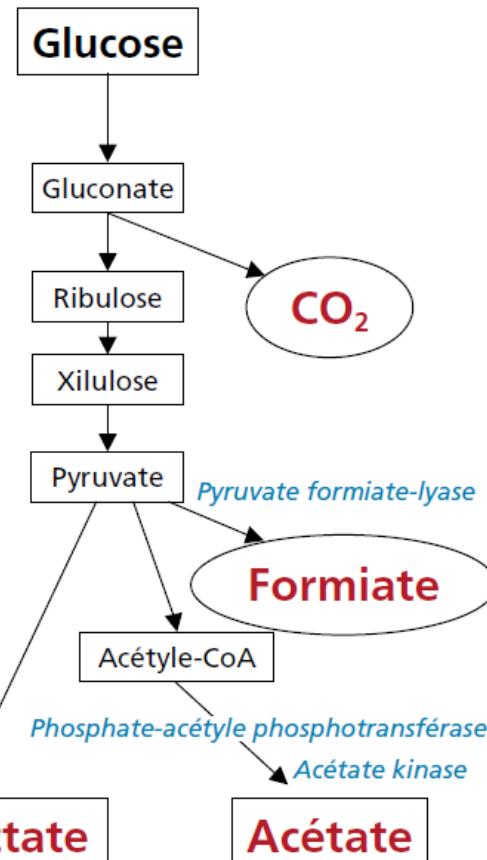


Lb. hétérofermentaires - les différents métabolismes

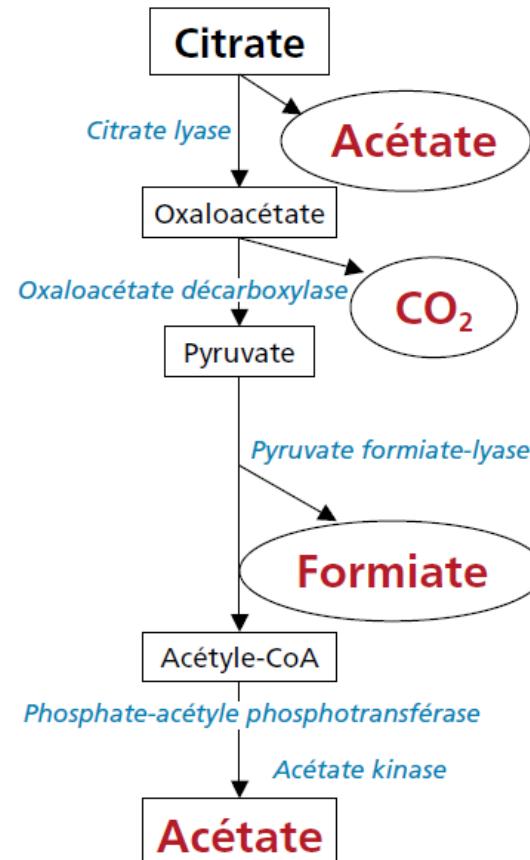
Présence de lactose



Concentration en sucre limitante



Absence de sucre



Fermentation homolactique

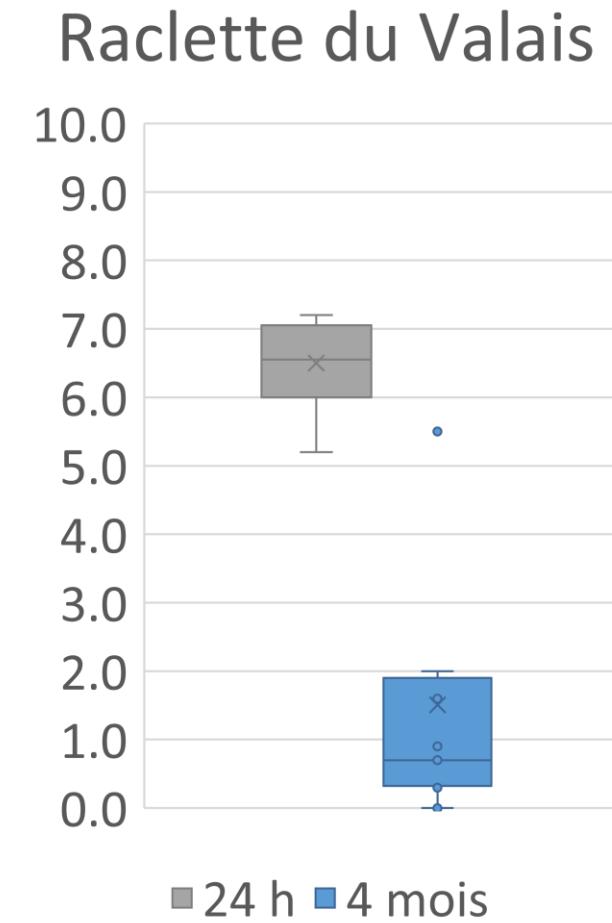
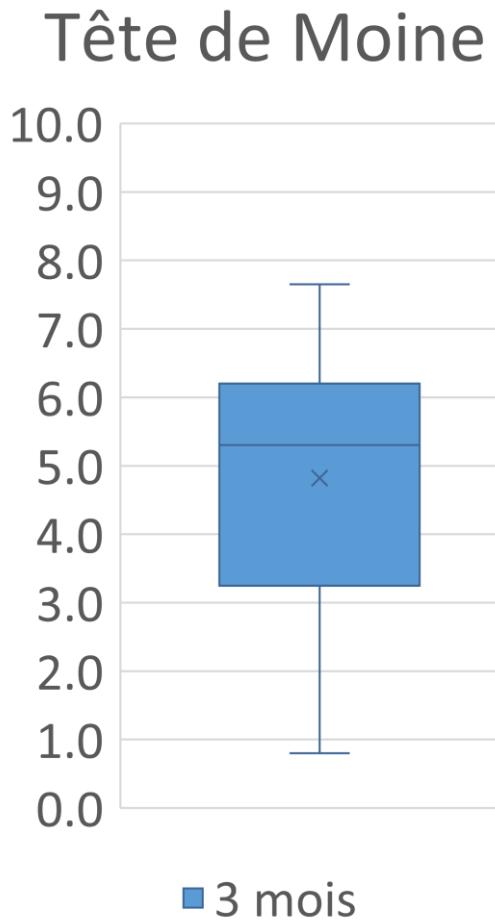
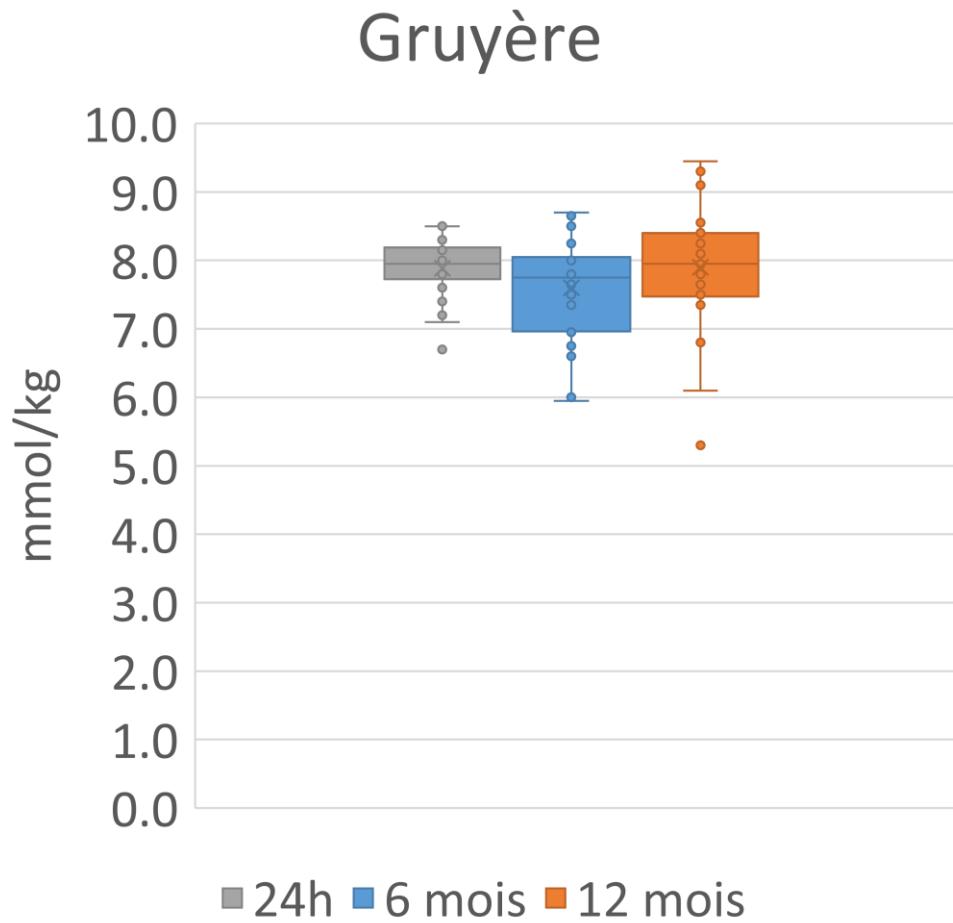
Fermentation hétérolactique

Utilisation du citrate

-*Lb casei*
-*Lb rhamnosus*
-*Lb plantarum*
peuvent fermenter le citrate mais uniquement lorsqu'il n'y a plus de présence de glucide.

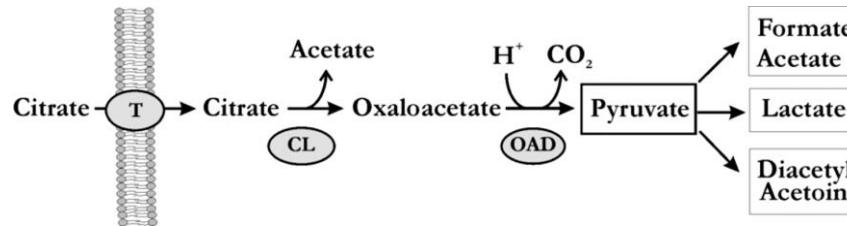


Citrate





Dégradation du citrate: fermentation du citrate



Leuconostoc mesenteroides ssp. *cremoris*
Leuc. lactis

Lactococcus lactis ssp. *diacetylactis*
Entérocoques

Lacticaseibacillus casei ssp. *casei*
Lb. rhamnosus
Lb. paracasei

} Lactose: voie hétérofermentaire

} Lactose: voie homofermentaire
Formation de gaz plus rapide que Leuc.

} Lactobacilles hétérofermentaires facultatifs (LHF):
dégradent le lactose par voie homofermentaire et les
pentoses par voie hétérofermentaire

Thermophiles (> 45 °C) (~8 mmol de citrate / kg de fromage)



Particularité des Lb. hétérofermentaires

Certaines souches ont la capacité de former une capsule



Photo 1 : bactéries non protégées



Photo 2 : bactéries protégées par une capsule

(*Lb. rhamnosus*)

La thermisation n'est pas toujours suffisante pour inhiber complètement *Lb rhamnosus*.



1. Exemple pratique : ouvertures provoqué par des Lb. hétérofermentaires dans un Gruyère (pesée)



Photo à 3 mois d'affinage

Raison :
Lait de producteur
contaminé



1. Exemple pratique : ouvertures provoqué par des Lb. hétérofermentaires dans un Gruyère (pesée)

[mmol/kg]		à 3 mois	à 5 mois	Normes à 5 mois [mmol/kg]
Acides gras volatils totaux		21.86	24.06	
Acide formique	C 1	1.86	✓ 2.31	X ↑
Acide acétique	C 2	18.39	20.14	↑↑
Acide propionique	C 3	0.51	0.36	
Acide i-butyrique	i-C 4	0.19	0.19	
Acide n-butyrique	n-C 4	0.57	0.71	
Acide i-valérique	i-C 5	0.24	0.22	
Acide i-caproïque	i-C 6	0.00	0.00	
Acide n-caproïque	n-C 6	0.10	0.13	< de 0.3
Acide butyrique provenant de la fermentation butyrique		0.12	0.13	< de 1.5

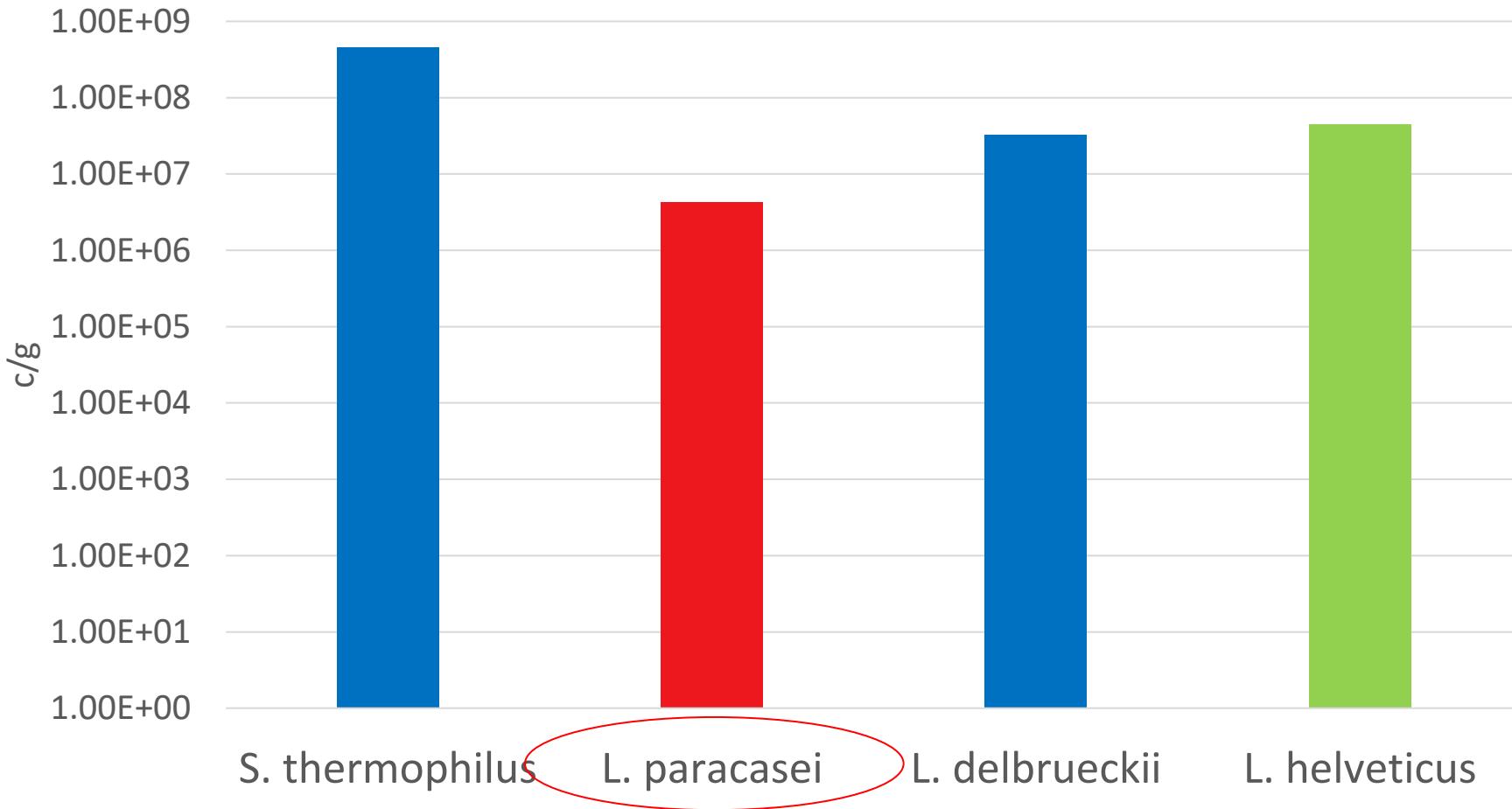
< de 2.0
Le GC à 3 mois montre uniquement une valeur trop élevée en acide acétique

< de 0.3

< de 1.5



qPCR du Gruyère à 5 mois





Contrôle fromagerie

Analyse	Lactobacilles hétérofermentaires facultatives ufc/g	Entérobactéries ufc/g
Culture sur petit-lait 20 h à 32°C	<10	<10
Culture sur petit-lait 20 h à 38°C	<10	<10
Lait sortie refroidisseur, premier producteur soir	<10	<10
Petit-lait en cuve	< 10	30
Petit-lait à la sortie des buses	< 10	< 10
Petit-lait sous les moules	< 10	< 10





Contrôle des laits des producteurs



Analyse	Lactobacilles hétérofermentaires facultatives ufc/g	Entérobactéries ufc/g
Producteur A lait soir et matin	10	<10
Producteur B lait soir et matin	<10	<10
Producteur C lait soir et matin	<10	<10
Producteur D lait soir et matin	<10	580
Producteur E lait soir et matin	<10	<10
Producteur F lait soir et matin	800	<10
Producteur G lait soir et matin	20	100
Producteur H lait soir et matin	Effet de dilution important	<10
Producteur I lait soir et matin	<10	<100
Producteur J lait soir et matin	<10	<10
Producteur K lait soir et matin	<10	<10
Producteur L lait soir et matin	<10	<10
Cuve 1	80	3800

Lactobacilles hétérofermentaires

Groupe de discussion JU-JUBE, Develier, 13.02.25



Visite d'étable chez le producteur F



Analyse	Lactobacilles hétérofermentaires facultatives ufc/g	Entérobactéries ufc/g
Vache Belinda	<10	<10
Petit pot avec griffe normale	<10	<10
Boille après petit pot	Pas de résultat	Pas de résultat
Vache Lona	<10	<10
Gros pot avec griffe (bout noir)	960	<10
Boilles après gros pot	230	Pas d'indication par les Entero <10
Vache Poupée	<10	<10
Petit pot	<10	<10
Gros pot	290	<10
Boilles 2	130	<10
Eau	<10	<10



Normes et valeurs maximales pour Lb. hétérofermentaires

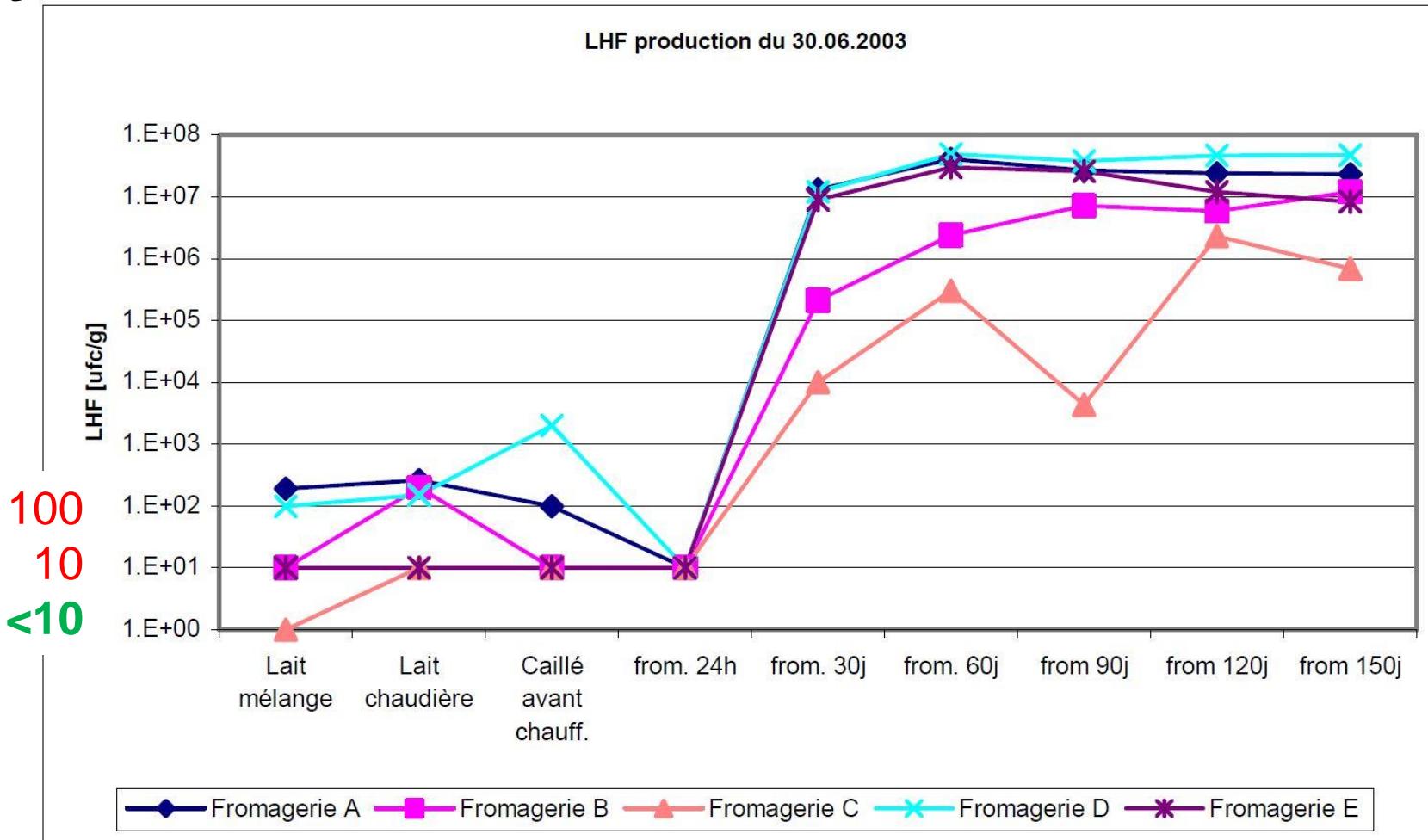
Une légère contamination du lait de cuve, de **10 à 100 UFC/ml**, suffit déjà pour provoquer un développement important de Lb. hétérofermentaires lors de la maturation du fromage.

Lb. hétérofermentaires

- peuvent **contribuer à l'arôme** ou provoquer un défaut d'arôme.
- en maturation prolongée, ils sont autolysés par manque de substrat.
- à concentration élevée, ils **forment des trous** sous la presse.
- certaines souches se développent dans le Gruyère sans défauts.



Développement de Lb. hétérofermentaires dans 5 Gruyère de différents fromageries





2. Exemple pratique : ouvertures provoquées par des Lb. hétérofermentaires dans un Gruyère (pesée)

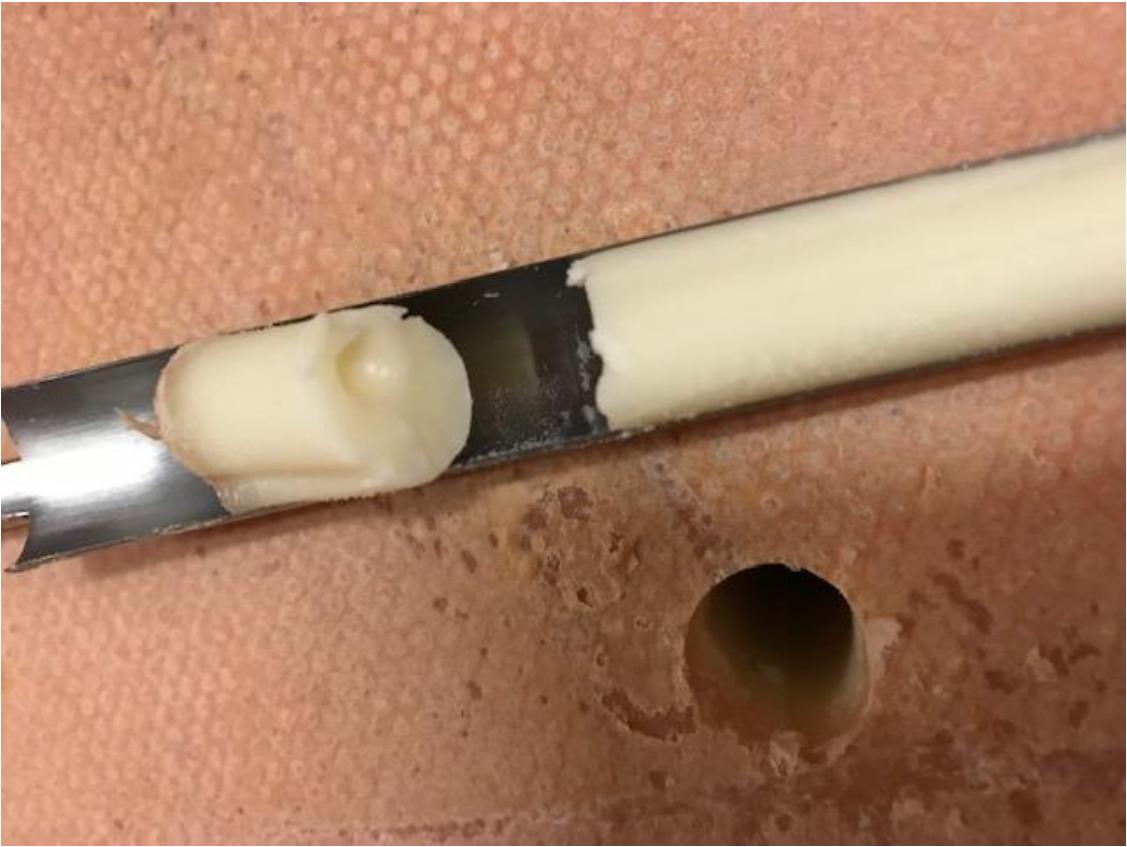


Photo prise lors de la pesée

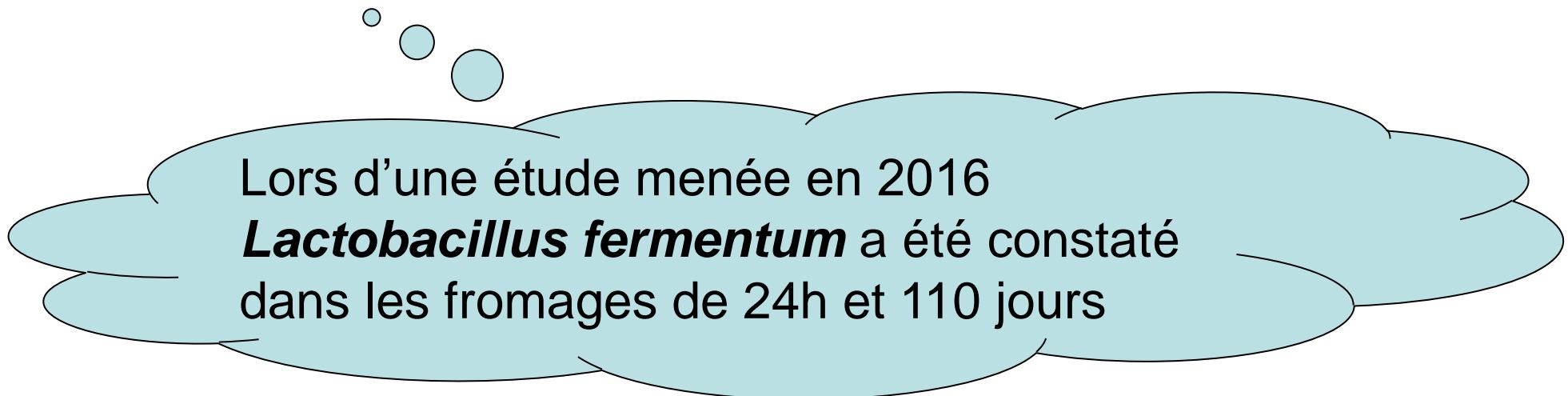
Raison :
biofilm de Lb.
hétérofermentaires
sur le matériel de moulage de la
fromagerie





Situation

- Fromagerie fabriquent du Gruyère AOP
- Vieilles infrastructures et installations
- Régulièrement des défauts d'ouvertures .



Lors d'une étude menée en 2016
Lactobacillus fermentum a été constaté
dans les fromages de 24h et 110 jours



Historique des chromatographies



		à 6 mois	à 6 mois	à 5,5 mois	à 5 mois	Normes
		20 jan.	4 avr.	13 avr.	30 avr.	à 5 mois
		2022	2022	2022	2022	[mmol/kg]
Acides gras volatils totaux		11.8	6.7	8.0	9.2	
Acide formique	C 1	1.4	0.7	0.6	0.9	< de 2.0
Acide acétique	C 2	9.3	5.2	6.4	7.4	
Acide propionique	C 3	0.1	0.0	0.0	0.0	< de 2.0
Acide i-butyrique	i-C 4	0.1	0.0	0.1	0.1	
Acide n-butyrique	n-C 4	0.7	0.6	0.6	0.5	
Acide i-valérique	i-C 5	0.1	0.1	0.1	0.1	
Acide i-caproïque	i-C 6	0.0	0	0	0	
Acide n-caproïque	n-C 6	0.2	0.1	0.1	0.1	< de 0.3
Acide butyrique provenant de la fermentation butyrique		0.0	0.1	0.1	0.0	< de 1.5



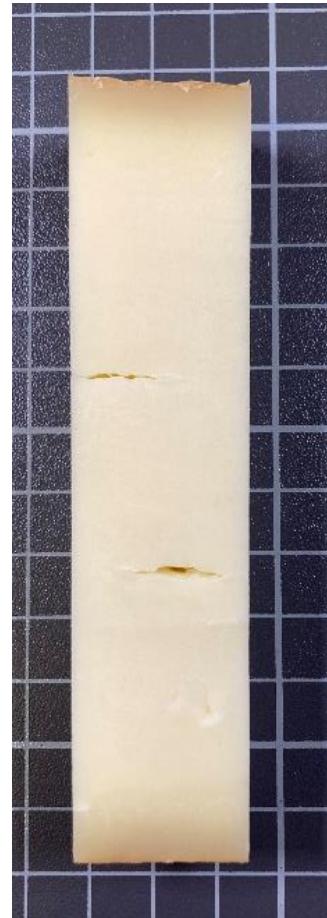
Echantillons



20 jan. 2022



4 avril 2022



13 avril 2022



30 avril 2022



Historique des chromatographies

		à 6 mois	à 7 mois	Normes	
		8 juil. 2022	18 août 2022	à 5 mois	
				[mmol/kg]	
Acides gras volatils totaux		24.5	7.2		
Acide formique	C 1	3.1	0.9	↑↑	< de 2.0
Acide acétique	C 2	17.1	5.7	↑↑	
Acide propionique	C 3	2.9	0.0	↑↑	< de 2.0
Acide i-butyrique	i-C 4	0.2	0.1		
Acide n-butyrique	n-C 4	0.9	0.5		
Acide i-valérique	i-C 5	0.2	0.1		
Acide i-caproïque	i-C 6	0.0	0.0		
Acide n-caproïque	n-C 6	0.1	0.1		< de 0.3
Acide butyrique provenant de la fermentation butyrique		0.3	0.4		< de 1.5



Echantillons



8 juillet 2022



18 août 2022

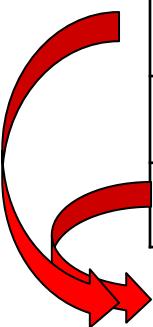


Contrôle des laits

Analyse des laits de la fabrication du Gruyère du 10 janvier 2023		
Echantillon	Date de prélèvement	Lactobacilles hétérofermentaires facultatifs UFC/g
Producteur A	10.01.2023	30
Producteur B	10.01.2023	<10
Producteur C	10.01.2023	<10
Producteur D	10.01.2023	20
Producteur E	10.01.2023	<10
Chaudière 1 soir	10.01.2023	30
Chaudière 2 soir	10.01.2023	10
Chaudière 1 matin	10.01.2023	<10
Chaudière 2 matin	10.01.2023	<10



Contrôle de la fromagerie



Echantillon	Date de prélèvement	Lactobacilles hétérofermentaires facultatifs ufc/g
Lait bac de réception	10.01.2023	< 10
Lait maigre entré cuve	10.01.2023	< 10
Petit-lait en cuve	10.01.2023	< 10
Petit-lait à la sortie des buses	10.01.2023	< 10
Petit-lait sous les moules	10.01.2023	< 10
Petit-lait bac de rétention sous presse	10.01.2023	90
Plaque pose tôle (frotti)	10.01.2023	100
Joint extérieur bac de rétention petit lait (frotti)	10.01.2023	8200
Foncets et rehausses (frotti)	01.02.2023	200

Biofilm sur le matériel de moulage !



**Joint extérieur bac de rétention du petit lait = 8200 ufc/g
de Lb. hétérofermentaires facultatifs**

En raison de leur poids important, les bacs de rétention du petit lait peuvent s'affaisser ou remonter par rapport au sol. L'absence d'étanchéité du joint entraîne une contamination du sol, compliquant ainsi le maintien de l'hygiène dans la fromagerie.



Conclusion

- **Présence de biofilms de Lb. hétérofermentaires sur le matériel de moulage !**

Mesures prises

- Arrêt de production pendant quelques jours pour un nettoyage approfondi de toute la fromagerie et la rénovation du carrelage.
- Changement des foncets et rehausses.
- Analyses régulières des laits des producteurs.



Mesures de prévention

Lait et culture:

- **Contrôle régulier** des Lb. hétérofermentaires laits de chaûtière, des cultures sur petit-lait, ainsi que des laits des producteurs.

Matériel :

- Veiller à maintenir le matériel de moulage en **bon état**, car un équipement poreux peut abriter des biofilms de Lb. hétérofermentaires.

Fabrication:

- Éviter la présence de galactose dans le fromage après 24 heures, car il peut favoriser le développement de ces bactéries.
- Limiter les repiquages successifs (*booster*) des cultures sur petit-lait, car cela peut accroître la prolifération des lactobacilles indésirables.
- Conserver les caillettes dans des conditions optimales pour éviter un développement.



Problématique

Analyse des Lb. hétérofermentaires sur milieu solide : L'ensemble de la famille est analysé, sans distinction des souches spécifiques.

Variabilité des souches : certaines produisent peu de gaz, d'autres génèrent plus de gaz.

Diffusion du gaz : une partie du gaz peut s'échapper à l'extérieur selon la consistance de la pâte.

Interactions bactériennes : les interactions durant l'affinage influencent le développement et l'activité des lactobacilles.

Attention, ils font partie de la **flore du lait** cru utile pour la diversité et le caractère du Gruyère





Conclusion

En cas de problèmes d'ouverture dans le Gruyère, réaliser une analyse du **GC** et, si nécessaire, la répéter plusieurs fois pour identifier l'origine du défaut.

La présence de **10 à 100 ufc/ml** de Lb. hétérofermentaires dans le lait de cuve peut, selon les circonstances, entraîner des ouvertures dans le Gruyère.

Seule l'analyse des **lactobacilles hétérofermentaires facultatifs** permet d'identifier la source de contamination, aucune autre analyse ne surveille efficacement ces espèces.



Nouvelle taxonomie de *Lactobacillus*

- **261 espèces** ont été rassemblées au sein du genre *Lactobacillus*, une diversité impossible à gérer en termes d'exigences environnementales et de caractéristiques génétiques et phénotypiques.
- 15 avril 2020 **nouvelle taxonomie** de *Lactobacillus* apparait dans le Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology (IJSEM)
- **Répartition** actualisée de *Lactobacillus* en **25 genres** chacun ayant des propriétés largement uniformes en ce qui concerne les exigences environnementales et le métabolisme («phylogénèse»).
- **25 noms de genre, partiellement nouveau**, ont été proposés. Seuls les noms du genre ont été adaptés, les noms des espèces ont été conservés.



Nouvelle taxonomie de *Lactobacillus*

Ancienne désignation (basonym)	Nouvelle désignation
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	=ancienne désignation (aucune modification)
<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Levilactobacillus brevis</i>
<i>Lactobacillus buchneri</i>	<i>Lentilactobacillus buchneri</i>
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Lacticaseibacillus casei</i>
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i>	=ancienne désignation (aucune modification)
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>lactis</i>	=ancienne désignation (aucune modification)
<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>
<i>Lactobacillus helveticus</i>	=ancienne désignation (aucune modification)
<i>Lactobacillus kefiri</i>	<i>Lentilactobacillus kefiri</i>
<i>Lactobacillus malefermentans</i>	<i>Secundilactobacillus malefermentans</i>
<i>Lactobacillus parabuchneri</i>	<i>Lentilactobacillus parabuchneri</i>
<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Lacticaseibacillus paracasei</i>
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>

Tableau: anciennes et nouvelles désignations de quelques lactobacilles importants dans le domaine de la production des denrées alimentaires et des aliments pour animaux



Denrées alimentaires
Agroscope Transfer | N° 60 / Avril 2015

Agroscope une bonne alimentation, un environnement sain

Les lactobacilles hétérofermentaires dans la fabrication du Gruyère

Groupes de discussion

Auteurs
Daniel Goy, John Haldemann, Ernst Jakob

Agroscope

Schweizerische Eidgenossenschaft
Confédération suisse
Confederazione Svizzera
Confederaziun svizra

Département fédéral de l'économie,
de la formation et de la recherche DEFR
Agroscope

Denrées alimentaires
Agroscope Transfer I n° 23

Formation d'ouverture indésirable dans le Gruyère AOP

Groupes de discussion

Avril 2014

Auteurs
Daniel Goy,
Dominik Guggisberg,
John Haldemann,
Ernst Jakob,
Daniel Wechsler

Agroscope

1. Introduction
L'ouverture est un critère spécifique à la sorte de fromage et représente un paramètre important pour l'évaluation de la qualité pour la plupart des fromages traditionnels. En ce qui concerne le Gruyère, le cahier des charges caractérise l'ouverture de la façon suivante: la présence d'ouverture est souhaitable mais pas indispensable. Les trous ont en majorité un diamètre de 4 à 6 mm. Des petites laines fermées, isolées sont admises.

Une conservabilité insuffisante est un problème multifactoriel. Elle est le résultat de plusieurs effets liés aux matières premières, à la transformation et à la maturation. Les facteurs suivants influencent d'une manière synergique le risque d'une formation de becs et de laines:

- une teneur en eau dans le fromage dégraissé (TEFD) élevée favorise l'activité fermentaire ce qui est favorable à la production de CO₂,
- la protéolyse progressive (= élasticité diminuée) rend la pâte de plus en plus cassante au cours de la maturation,
- la matière grasse est plus dure pendant l'hiver (= effet d'affouragement), ce qui diminue l'élasticité de la pâte. Ce facteur est une des explications pour l'apparition de ce problème pendant la saison hivernale.

Lors d'une étude réalisée en 2005, une comparaison analytique a été faite entre 14 Gruyère de bonne qualité et 17 Gruyère avec des défauts d'ouverture. Plusieurs critères ont été identifiés comme significativement différents entre les deux groupes (Tableau 1).

01-AI-2014_23.h.indd 1

15.04.14 08:26

Lactobacilles hétérofermentaires

Groupe de discussion JU-JUBE, Develier, 13.02.25

3.3. Analyses bactériologiques

Le nombre moyen des lactobacilles hétérofermentaires facultatifs était plus élevé dans le groupe de Gruyère avec défauts d'ouverture (pas significatif). Une présence de *L. fermentum* a été remarquée dans 5 fromages de ce même groupe. Présents dans l'herbe et les fourrages, mais aussi dans les caillettes mal conservées, le *L. fermentum* est susceptibles de coloniser le matériel de fromagerie en formant des biofilms.



Merci pour votre attention

nicolas.fehler@agroscope.admin.ch

Agroscope une bonne alimentation, un environnement sain
www.agroscope.admin.ch

