

Comparaison de méthodes de quantification des bactéries butyriques dans le lait

Ernst Jakob¹ et Daniel L. Glauser²

¹Agroscope, 3003 Berne, Suisse

²Suisselab AG, 3052 Zollikofen, Suisse

Renseignements: Daniel L. Glauser, e-mail: daniel.glauser@suisselab.ch



La plateforme AMP-6000® de SY-LAB se compose du robot de pipetage APS et de l'unité de scannage.

Introduction

La fermentation butyrique, aussi appelée gonflement tardif, est l'un des défauts les plus redoutés de fermentation dans le fromage. Elle est principalement causée par des spores de *Clostridium tyrobutyricum*. Dans des cas plus rares, *C. butyrium* et *C. beijerinckii* peuvent également causer une fermentation butyrique. Une autre espèce de clostridies, *C. sporogenes*, est connue pour provoquer la pourriture blanche dans le fromage d'Emmental. Ces germes sont également connus sous le nom de clostridies dommageables pour le fromage, de spores anaérobies ou de bactéries butyriques. Elles se trouvent dans le sol et surtout dans les ensilages de mauvaise qualité (Wyss et Goy 2012). Lors de la traite, les spores peuvent contaminer le lait et donc parvenir dans le fromage. Même 50 spores par litre de lait peuvent causer des dommages au fromage. Le lait provenant

d'exploitations agricoles qui nourrissent leur bétail avec de l'ensilage ne peut être transformé en fromage en toute sécurité qu'après une réduction technologique du nombre de spores ou l'ajout d'agents de conservation qui sont toutefois peu appréciés, tels que le nitrate ou le lysozyme. Le traitement le plus courant est la bactofugation, qui élimine 90 à 99 % des spores bactériennes résistantes à la chaleur (Jakob & Eugster 2016). Si le lait est fortement contaminé par des spores, la réduction du nombre de spores peut être insuffisante, de sorte qu'une fermentation défectueuse peut quand même se produire dans le fromage. La bactofugation n'est pas applicable pour la production de fromage au lait cru. Pour fabriquer des fromages au lait cru, il est indispensable de transformer du lait cru particulièrement pauvre en spores. Dans tous les cas, il est recommandé

aux fromageries de bien surveiller la qualité du lait livré et de contrôler qu'il ne soit pas contaminé par des spores anaérobies.

Pour la détection des spores anaérobies dommageables pour le fromage, deux méthodes sont principalement utilisées dans les laboratoires suisses de contrôle du lait: la méthode NPP (CNERNA 1986) et la méthode de filtration selon Bourgeois (Bourgeois *et al.* 1984). La méthode NPP utilise le Bryant Burkey Bouillon non sélectif avec du lactate et de la résazurine et évalue le nombre le plus probable de spores (NPP) dans l'échantillon en utilisant une méthode mathématique. La méthode de filtration est une méthode de comptage des colonies utilisant un milieu sélectif constitué de gélose (*Reinforced Clostridium Medium* RCM avec de la cyclosérine). En 2018, la société SY-LAB a introduit sur le marché une nouvelle méthode de quantification des spores anaérobies dans le lait (Brändle *et al.* 2018). Cette méthode utilise également le milieu nutritif RCM qui contient, en plus de la cyclosérine, l'antibiotique triméthoprime. Cette méthode permet l'automatisation de certaines étapes de travail et une détermination sélective plus rapide des spores anaérobies dommageables pour le fromage. L'objectif de la présente étude était de comparer la nouvelle méthode de SY-LAB avec les méthodes couramment utilisées en Suisse.

Matériel et méthodes

Pendant les mois d'hiver, lorsque, comme le montre l'expérience, la charge en spores du lait augmente, 93 échantillons de lait de fournisseurs provenant de la production laitière sans ensilage (SILFRE) ont été collectés. À cela se sont ajoutés 217 échantillons de lait prélevés dans des exploitations laitières distribuant de l'ensilage, dont 110 échantillons prélevés dans les citernes de camions de ramassage du lait (SILS) et 107 dans des citernes de lait de producteurs laitiers individuels (SILE). Pour l'analyse, les échantillons de lait ont été divisés en trois aliquotes et livrés aux laboratoires spécialisés.

La teneur en spores de chaque lait a été mesurée selon trois méthodes différentes. Le système AMP-6000® a été appliqué à l'aide du milieu nutritif sélectif chromogène AmpMedia 666 (réf. 62-166613, SY-LAB Geräte GmbH, A-3011 Neupurkersdorf), ci-après dénommé MSYL. Il s'agit d'un nouveau procédé NPP utilisant des plaques de microtitration (Brändle *et al.* 2018). Pour la pasteurisation, 27 ml de lait ont été placés dans des tubes de pasteurisation de 50 ml munis d'un filtre (réf. 62-502200+, SY-LAB Geräte GmbH, A-3011 Neupurkersdorf) et incubés pendant 20 min dans un bain-marie couvert à 80 °C. Après une courte étape de refroidissement (5 min dans

Résumé

Il existe actuellement deux méthodes d'analyse principales utilisées en Suisse pour détecter, dans le lait, les spores anaérobies – ou spores butyriques – dommageables pour le fromage: la méthode NPP selon CNERNA et la méthode de filtration selon Bourgeois. Dans le cadre de la campagne hivernale annuelle d'un transformateur de lait, campagne destinée à surveiller la contamination du lait cru par des spores anaérobies, les deux méthodes existantes ont été comparées à une nouvelle méthode (SY-LAB). À cette fin, 93 échantillons de lait provenant de la production laitière sans ensilage et 217 échantillons provenant de la production laitière avec ensilage ont été analysés au moyen des trois méthodes. Dans le cas du dernier groupe, la nouvelle méthode s'est révélée probante par rapport aux deux autres en raison de sa plus grande précision et d'une plage de mesure très large allant de 44 à 19 000 spores/l. Dans les échantillons provenant de la production de lait sans ensilage, des spores ont été détectées dans seulement 9 % des échantillons avec la nouvelle méthode, dans 29 % des échantillons avec la méthode de filtration (limite de détection 25 spores/l) et dans 44 % des échantillons avec la méthode NPP (limite de détection 53 spores/l). La nouvelle méthode combine l'avantage de la spécificité de la méthode de filtration avec la fiabilité de la méthode NPP et pourrait donc offrir – en dépit de sa sensibilité plus faible – des avantages non seulement pour l'analyse du lait d'ensilage, mais aussi pour celle du lait sans ensilage.

un bain-marie à température ambiante), 9 ml d'AmpMedia 666 ont été ajoutés par échantillon. 96 × 320 µl de ce mélange (équivalent à 96 × 240 µl de lait) ont ensuite été répartis sur les plaques de microtitration (réf. 62-50303060, SY-LAB Geräte GmbH, A-3011 Neupurkersdorf) en utilisant le système de pipetage AMP-6000 APS. Les plaques de microtitration remplies ont été transférées dans des récipients anaérobies nox-18 (réf. 60-300100, SY-LAB Geräte GmbH, A-3011 Neupurkersdorf) et traitées avec un gaz protecteur (H₂/CO₂ bioreduce 10/10 %, PanGas AG, CH-6252 Dagmersellen) par un système PetriSphere (Biotool AG, CH-3422 Kirchberg). L'oxygène résiduel a été éliminé à l'aide du catalyseur de

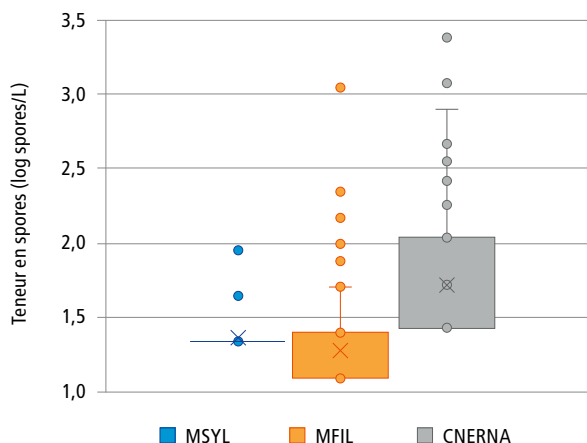
Tableau 1 | Méthodes utilisées pour dénombrer les spores anaérobies (format NPP ou volume d'échantillon, limite de détection LD et limite supérieure de quantification LQS [spores/litre])

Méthodes	Lait d'ensilage Camion de ramassage du lait (SILS)	Lait d'ensilage Fournisseurs individuels (SILE)	Lait sans ensilage Fournisseurs individuels (SILFRE)
SY-LAB AMP-6000 (MSYL)	96 × 240 µl [LD = 44] [LQS = 19 000]	96 × 240 µl [LD = 44] [LQS = 19 000]	96 × 240 µl [LD = 44] [LQS = 19 000]
Méthode NPP selon CNERNA (CNERNA)	5 × 1 ml + 5 × 0,1 ml [LD = 180] [LQS = 16 000]	5 × 1 ml + 5 × 0,1 ml [LD = 180] [LQS = 16 000]	10 × 2 ml [LD = 53] [LQS = 12 000]
Méthode de filtration (MFIL)	40 ml [LD = 25] [LQS = 12 500]	20 ml [LD = 50] [LQS = 25 000]	40 ml [LD = 25] [LQS = 12 500]

sécurité anaérobie OXOID (Thermo Fisher Diagnostics AG, 4133 Pratteln, Suisse). Après une incubation anaérobie de 48 ± 2 h à 37°C , les plaques ont été évaluées à l'aide du scanner AMP-6000 et du logiciel associé.

La méthode de filtration modifiée selon Bourgeois (Bourgeois *et al.* 1984; Jakob *et al.* 2011) et la méthode NPP selon CNERNA (CNERNA 1986) ont été utilisées comme méthodes de référence. Pour la comparaison des méthodes, on a choisi des laboratoires qui utilisaient couramment l'une des méthodes et qui étaient donc expérimentés. Les méthodes et les formats d'analyse utilisés sont résumés dans le tableau 1.

Cinq échantillons de lait de mélange (SILE) ont été préparés et chaque échantillon a été analysé dix fois de suite pour déterminer la répétabilité des différentes méthodes. La précision de la comparaison pour la méthode AMP-6000 a été estimée toujours à l'aide du même échantillon de contrôle positif, qui a été analysé 12 fois sur une période de 70 jours (12 jours différents).

**Figure 1** | Comparaison des méthodes en ce qui concerne les teneurs en spores du lait provenant d'exploitations laitières ne distribuant pas d'ensilages (N=93).

Évaluation statistique

Pour l'évaluation statistique, le logarithme a été calculé pour chaque valeur de mesure. Afin de pouvoir inclure dans l'évaluation également des résultats qui sont en dehors des limites de détermination ($<$ limite de détection; $>$ limite de quantification supérieure), ceux-ci ont été remplacés par des valeurs numériques de la façon suivante: « $<$ LD» = LD/2; « $>$ LQS» = $2 \times$ LQS. Toutefois, le diagramme Bland-Altman a été créé sans ces valeurs de remplacement. L'écart-type de répétabilité a été calculé à l'aide d'une analyse de variance simple (Systat 13, SYSTAT Software Inc.).

Résultats et discussion

Analyse du lait produit sans ensilage

La méthode CNERNA, qui utilise le milieu non sélectif Bryant Burkey, a mesuré comme escompté des teneurs en spores plus élevées que les deux autres méthodes utilisant un milieu sélectif. Ceci était particulièrement évident dans le cas des 93 échantillons de lait provenant de la production de lait sans ensilage (fig. 1). En utilisant les méthodes MSYL et MFIL, respectivement 91 et 71 % des échantillons présentaient une teneur en spores inférieure à la limite de détection et 56 % avec la méthode CNERNA (format 10×2 ml). La méthode MSYL n'a mesuré aucune valeur supérieure à 100 spores/litre, avec la MFIL, 4 échantillons étaient supérieurs à cette valeur et 24 avec la méthode CNERNA. Il n'a pas été possible de comparer des valeurs moyennes avec si peu de données.

Analyse du lait produit à base d'ensilage

Sur un total de 217 échantillons de lait produit à base d'ensilage, seuls 10 % des cas présentaient des teneurs en spores inférieures à la limite de détection de la méthode utilisée. Comme prévu, la dispersion des valeurs mesurées dans les échantillons des camions de ramas-

sage du lait était plus faible que celle dans les échantillons des fournisseurs individuels (fig. 2). La méthode CNERNA a donné des teneurs en spores significativement plus élevées que les deux autres méthodes (tabl. 2). Les valeurs des méthodes MFIL et MSYL différaient significativement ($P < 0,001$) dans le cas des échantillons de lait provenant de camions de ramassage du lait (SILS), dont moins de 5 % avaient une teneur en spores inférieure aux limites de détection des méthodes. La différence entre MFIL et MSYL n'était pas significative ($P=0,67$) dans le cas des fournisseurs individuels (SILE), où entre 14 et 23 % des échantillons présentaient des valeurs inférieures aux limites de détection.

Les diagrammes Bland-Altman dans les figures 3 et 4 montrent la concordance de la nouvelle méthode MSYL avec les méthodes CNERNA et MFIL. Pour les diagrammes, seuls les échantillons de lait d'ensilage qui ont eu pour résultat une valeur numérique avec les deux méthodes ont été utilisés. Comme il ressort de la figure 3, la méthode MSYL a montré en moyenne $-0,416$ log spores/l ($N=169$ paires de valeurs) de teneur en spores inférieure à celle de la méthode CNERNA. Cette valeur concorde avec les données de Brändle *et al.* (2018), qui ont déterminé un écart moyen de $-0,39 \pm 0,04$ log spores/l par rapport à la méthode CNERNA. L'analyse de régression de nos valeurs de mesure a montré la relation $MSYL = 0,868 \times CNERNA$ (log spores/l), avec un coefficient de corrélation de $r=0,749$. La constante n'était pas significativement différente de zéro ($P=0,43$). En revanche, Brändle *et al.* (2018) ont calculé une relation $MSYL = -0,54 + 1,06 \times CNERNA$ (log spores/l), mais ils ont

Tableau 2 | Teneurs moyennes en spores mesurées avec les trois méthodes dans les échantillons de lait d'ensilage.

Méthodes	Échantillons de lait provenant de camions de ramassage (SILS, N = 110)	Échantillons de lait de fournisseurs individuels (SILE, N = 107)
	Valeur moyenne* log spores/l (spores/l)	Valeur moyenne* log spores/l (spores/l)
MSYL	2,877 ^a (753)	2,612 ^a (410)
MFIL	2,577 ^b (377)	2,508 ^a (322)
CNERNA	3,289 ^c (1945)	3,107 ^b (1280)

*Les valeurs indiquées avec des lettres différentes dans une colonne diffèrent significativement ($P < 0,001$).

également tenu compte des résultats en dehors des limites de détermination (remplacés par des valeurs numériques).

Dans la comparaison des méthodes MSYL et MFIL (fig. 4), la MSYL a affiché en moyenne des valeurs supérieures de $0,226$ log spores/l ($N=137$ paires de valeurs). Il ressort de l'analyse de régression la relation $MSYL = 1,459 + 0,504 \times MFIL$ (log spores/l) avec un coefficient de corrélation de $r=0,407$. Celui-ci est inférieur à la valeur de $r=0,749$ obtenue dans la comparaison de MSYL et de CNERNA. La différence s'explique par le fait que la plage de mesures MSYL (50–2500 spores/l) est nettement plus restreinte que celle de la méthode CNERNA (180–16000 spores/l).

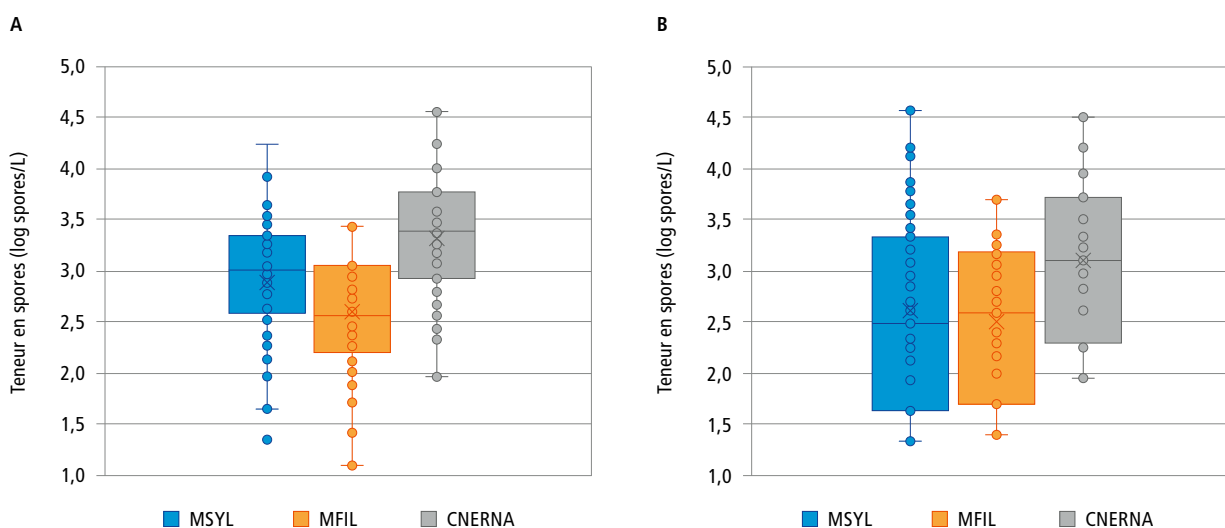


Figure 2 | Comparaison des méthodes en ce qui concerne les teneurs en spores mesurées dans le lait produit à base d'ensilage. A) Échantillons de lait provenant de camions de ramassage du lait. B) Échantillons de lait provenant de fournisseurs individuels.

Tableau 3 | Incertitude de mesure des méthodes déterminée sur la base d'échantillons de lait de mélange produit à base d'ensilages

	s_r (log spores/l)*	s_R (log spores/l)**
MSYL (96 × 0,24 ml = 23,04 ml de lait)	0,105	0,18*
MFIL (1 × 20 ml de lait)	0,213	n.d.
CNERNA (5 × 1 + 5 × 0,1 ml = 5,5 ml de lait)	0,203	n.d.

*10 analyses consécutives de 5 échantillons mélangés différents.

**Précision de la comparaison au jour le jour (12 analyses simples sur une période de 70 jours, teneur en spores du lait 626 spores/l). n.d. = non déterminé.

Précision des méthodes

L'écart-type de la répétabilité s_r , c'est-à-dire la dispersion des valeurs de mesure dans le cas d'une analyse multiple d'un échantillon en série (même jour, mêmes réactifs, etc.) a été déterminé par une analyse répétée de cinq échantillons différents de lait de mélange. Sur la base de ces échantillons, qui présentaient des teneurs en spores comprises entre 600 et 1300 spores/l (mesurées avec la méthode MSYL), une très bonne valeur $s_r = 0,105$ (log spores/l) a été déterminée pour la méthode MSYL. Comme le montre le tableau 3, s_r était environ deux

fois plus élevé pour les méthodes MFIL et CNERNA. La dispersion plus faible de la méthode MSYL s'explique principalement par la précision fondamentalement plus élevée d'un format NPP avec 96 réactions partielles par rapport à un seul format avec seulement dix réactions (CNERNA). Toutefois, cet avantage de la méthode MSYL est négligeable dans le cas d'un lait pauvre en spores provenant d'une production laitière sans ensilages. Si, par exemple, un lait avec 100 spores par litre (2 spores dans 20 ml) est analysé, ce n'est pas déterminant si 20 ml d'échantillon sont répartis dans 96 (MSYL) ou 10 tubes (CNERNA 10 × 2 ml).

L'écart-type de la répétabilité s_R n'a été déterminé que pour la méthode MSYL en effectuant 12 analyses du même échantillon de lait de mélange réparties sur une période de 70 jours. Une valeur $s_R = 0,18$ (log spores/l) a été déterminée. Dans un essai interlaboratoire avec différents échantillons de lait et impliquant plusieurs laboratoires, le s_R serait probablement plus élevé. Cependant, les précédents essais interlaboratoire d'Agroscope ont montré que les méthodes NPP sont relativement fiables, de sorte que la contribution des laboratoires à l'incertitude de mesure globale est inférieure à celle de la méthode de filtration (MFIL).

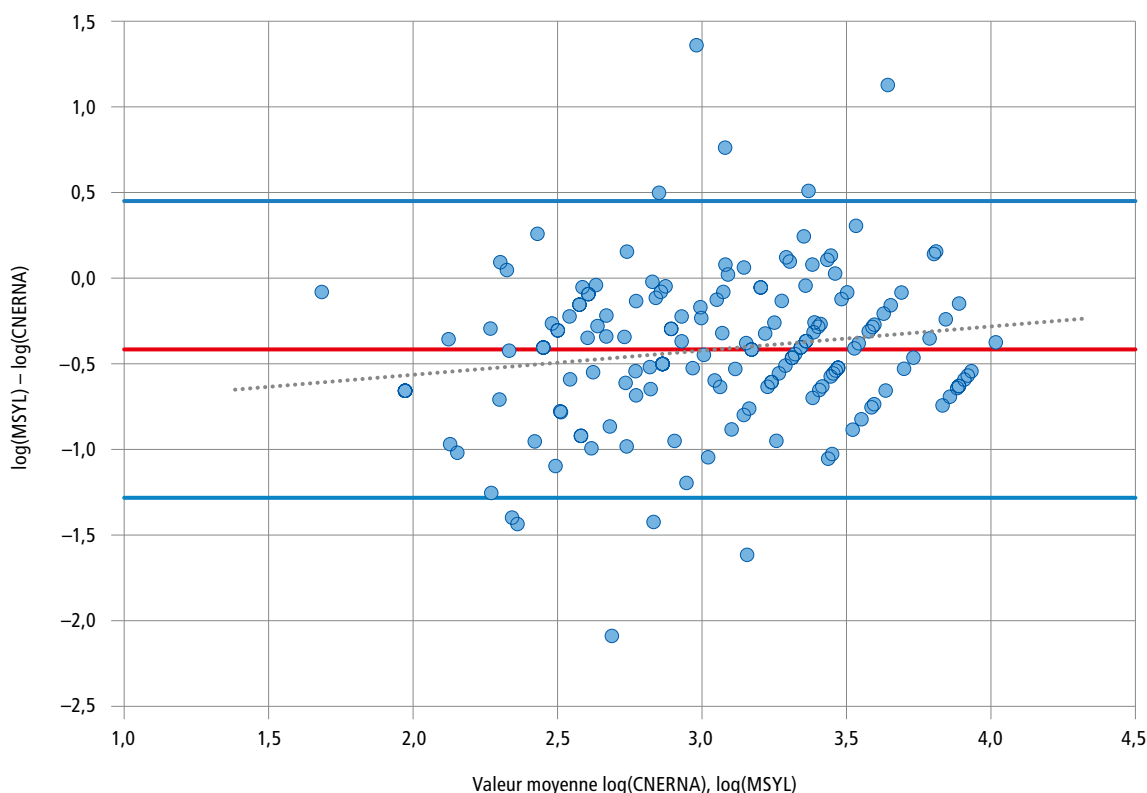


Figure 3 | Diagramme Bland-Altman de la comparaison des méthodes MSYL et CNERA (N=169 échantillons de lait d'ensilage). La ligne rouge indique l'écart moyen entre les méthodes, les lignes bleues représentent l'intervalle de confiance.

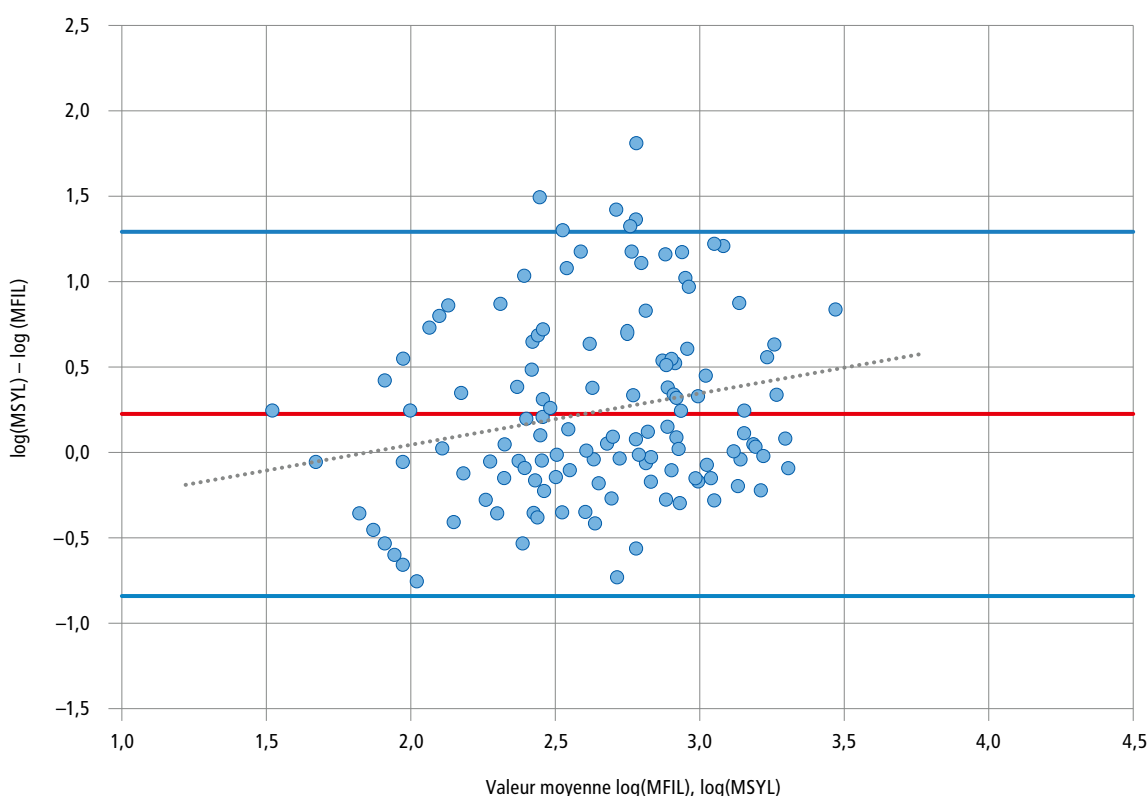
Tableau 4 | Comparaison des méthodes d'analyse par rapport aux proportions d'échantillons de lait de fournisseurs dépassant certaines teneurs en spores.

Méthode	Échantillons SILE (N=107)		Échantillons SILFRE (N=93)	
	Teneur en spores/l	Proportion	Teneur en spores/l	Proportion
MSYL	≥ 1000	36 %		
MSYL	≥ 2000	25 %	≥ 44 (≥ NG)	9 %
MSYL	≥ 4000	20 %	≥ 88	2 %
MFIL	≥ 1000	36 %	≥ 25 (≥ NG)	29 %
MFIL	≥ 1500	26 %	≥ 50	17 %
MFIL	≥ 2000	22 %	≥ 75	8 %
CNERNA	≥ 2000	39 %	≥ 180	14 %
CNERNA	≥ 4000	26 %	≥ 260	10 %
CNERNA	≥ 6000	21 %	≥ 350	8 %

Valeurs indicatives pour la teneur en spores du lait

Étant donné que la méthode MSYL est nouvelle, il est nécessaire d'établir de nouvelles valeurs maximales pour la teneur en spores du lait. Ces valeurs doivent correspondre aux valeurs maximales qui s'appliquent lors de l'utilisation des méthodes usuelles. Le tableau 4 donne un aperçu des proportions d'échantillons de lait prove-

nant de fournisseurs individuels (SILE et SILFRE) qui ont dépassé certaines teneurs en spores. Dans le cas du lait de fournisseurs issu de la production sans ensilage, des teneurs en spores ≥ 350 spores/l sont contestées lors de l'utilisation de la méthode CNERNA (format 10 × 2 ml), ce qui aurait entraîné un taux de contestation de 8 % pour les échantillons SILFRE analysés ici. Ce taux correspond


Figure 4 | Diagramme Bland-Altman de la comparaison des méthodes MSYL et MFIL (N=137 échantillons de lait d'ensilage). La ligne rouge indique l'écart moyen entre les méthodes, les lignes bleues couvrent l'intervalle de confiance.

approximativement à 9 % des échantillons avec ≥ 44 spores/l mesurés avec la méthode MSYL. Dans le cas de la MFIL, où normalement seules des teneurs en spores de < 25 spores/l sont tolérées, 29 % des échantillons auraient dû faire l'objet d'une contestation dans le cas des échantillons SILFRE.

Il n'existe pas de limites maximales uniformes pour le lait produit à base d'ensilages. Celles-ci sont généralement déterminées par les acheteurs de lait eux-mêmes et dépendent de la technologie d'élimination des spores utilisée (bactofugation simple, double bactofugation). En tous les cas, il convient de fixer des teneurs maximales différentes aussi pour le lait produit à base d'ensilages, en fonction de la méthode utilisée. Comme le montre le tableau 4, on s'attendrait à un taux de contestation similaire de 25 % si les valeurs maximales suivantes étaient appliquées: MSYL < 2000 , MFIL < 1500 , CNERNA < 4000 spores/l. Un taux de contestation de 25 % semble élevé et peut plaider en faveur de la fixation de valeurs maximales plutôt plus élevées. Cependant, notre expérience montre que la teneur en spores du lait peut être maintenue bien en dessous de 1000 spores/l (MFIL) avec une bonne qualité d'ensilage et une bonne hygiène de traite.

Conclusions

La nouvelle méthode MSYL pour la détermination des spores dommageables pour le fromage dans le lait est une alternative intéressante aux deux méthodes d'analyse actuellement utilisées en Suisse, la méthode NPP (CNERNA) et la méthode de filtration (MFIL). Avec des limites de quantification de 44 et 19000 spores/l, cette méthode affiche une plage de mesure très large. Elle a l'avantage de ne pas devoir être adaptée à la teneur en spores attendue du lait et convient aussi bien pour le

lait produit sans ensilage que pour le lait d'ensilage. La nouvelle méthode est également supérieure en termes de précision (répétabilité), en particulier dans le cas de teneurs en spores plus élevées. Dans l'analyse d'échantillons provenant de la production de lait sans ensilage, cette méthode offre l'avantage d'une sélectivité élevée par rapport aux spores de *Clostridia*. À cet égard, la nouvelle méthode est comparable à la méthode de filtration, mais elle est un peu moins sensible (limite de détection de 44 au lieu de 25 spores/l). Toutefois, cette méthode est en mesure de compenser cet inconvénient par une plus grande fiabilité. D'autres avantages de la nouvelle méthode sont le temps d'analyse de seulement deux jours et la possibilité d'automatiser certaines étapes de travail. Et contrairement à la méthode de filtration, elle convient également à l'analyse du lait de brebis, de chèvre et de bufflonne. ■

Remerciements

Les auteurs remercient Florian Schmutz et Tsilla Sunier pour leur excellent support technique ainsi que Roger Flury et Urs Bühler pour la préparation des échantillons de lait et les résultats d'analyse.

Riassunto**Confronto tra i metodi per quantificare i batteri dell'acido butirrico nel latte**

Nell'ambito della campagna annuale invernale di un'azienda di trasformazione del latte per il controllo della contaminazione del latte crudo con spore anaerobiche dannose per il formaggio, note anche come spore di batteri butirrici, sono stati confrontati i metodi analitici attualmente utilizzati in Svizzera (metodo MPN secondo CNERNA e metodo di filtrazione secondo Bourgeois) usando un nuovo metodo (SY-LAB). A tal fine sono stati esaminati, usando i tre metodi, 93 campioni di latte provenienti da una produzione di latte senza insilati e 217 campioni di latte da una produzione con insilati. Per il secondo gruppo, il nuovo metodo è stato più convincente rispetto agli altri metodi, attestando una maggiore precisione e un campo di misura molto ampio, da 44 a 19000 spore/L. Nei campioni provenienti dalla produzione di latte senza insilati, le spore sono state rilevate solo nel 9% dei campioni con il nuovo metodo, nel 29% dei campioni con il metodo di filtrazione (limite di rilevamento 25 spore/L) e nel 44% dei campioni con il metodo MPN (limite di rilevamento 53 spore/L). Il nuovo metodo combina il vantaggio della specificità del metodo di filtrazione con la robustezza dei metodi MPN e potrebbe quindi offrire vantaggi non solo per il latte prodotto con insilati, ma anche per il latte prodotto senza insilati, nonostante la minore sensibilità.

Summary**Comparison of methods for quantifying butyric acid bacteria in milk**

As part of a milk processor's annual winter campaign for monitoring the contamination of raw milk with anaerobic spores harmful to cheese – also called butyric acid spores – the analysis methods currently used in Switzerland (MPN method according to CNERNA and filtration method according to Bourgeois) are compared with a new method (SY-LAB). To this end, 93 milk samples from silage-free and 217 samples from non-silage-free milk production were examined with all three methods. In the latter group, the new method delivered more impressive results than the other methods, thanks to its greater precision and a very large measurement range of 44 to 19,000 spores/L. In the milk samples from silage-free milk production, the new method detected spores in only 9% of the samples, the filtration method in 29% (detection level of 25 spores/L) and the MPN method in 44% of the samples (detection level of 53 spores/L). In combining the filtration method's advantage of specificity with the robustness of MPN methods, the new method could offer advantages not just for silo milk, but also for silo-free milk, despite its lower sensitivity.

Key words: anaerobic spore counts, milk, analytical methods, comparison.

Bibliographie

- Wyss U. & Goy D., 2012. La charge en spores butyriques des ensilages et du foin humide examinée à la loupe. *Recherche Agronomique Suisse* **3** (11–12), 544–551.
- Jakob E. & Eugster E., 2016. Sécurité alimentaire du fromage: procédés de traitement du lait de fromagerie. *Recherche Agronomique Suisse* **7** (11–12), 476–483.
- Brändle J., Heinzle L., Fraberger V., Berta J., Zitz U., Schinkinger M., Stocker W., Kneifel W. & Domig K.J., 2018. Novel approach to enumerate clostridial endospores in milk. *Food Control* **85**, 318–326.
- Bourgeois C.M., Le Parc O., Abgrall B. & Cleret J.-J., 1984. Membrane Filtration of Milk for Counting Spores of *Clostridium tyrobutyricum*. *Journal of Dairy Science* **67**, 2493–2499.
- Jakob E., Berta A., Bühler U., Gsell H. & Odermatt P., 2011. Quantitative Bestimmung käseschädlicher anaerober Sporen in Milch und Wasser – Membranfiltertechnik mit Selektivmedium. Forschungsbereich Mikrobielle Systeme von Lebensmitteln, Agroscope, CH-3003 Bern.
- CNERNA, 1986. Recommandations pour l'estimation de la contamination du lait en spores de Clostridia par la méthode de culture en milieu liquide. *Revue Laitière Française* **451**, 39–45.