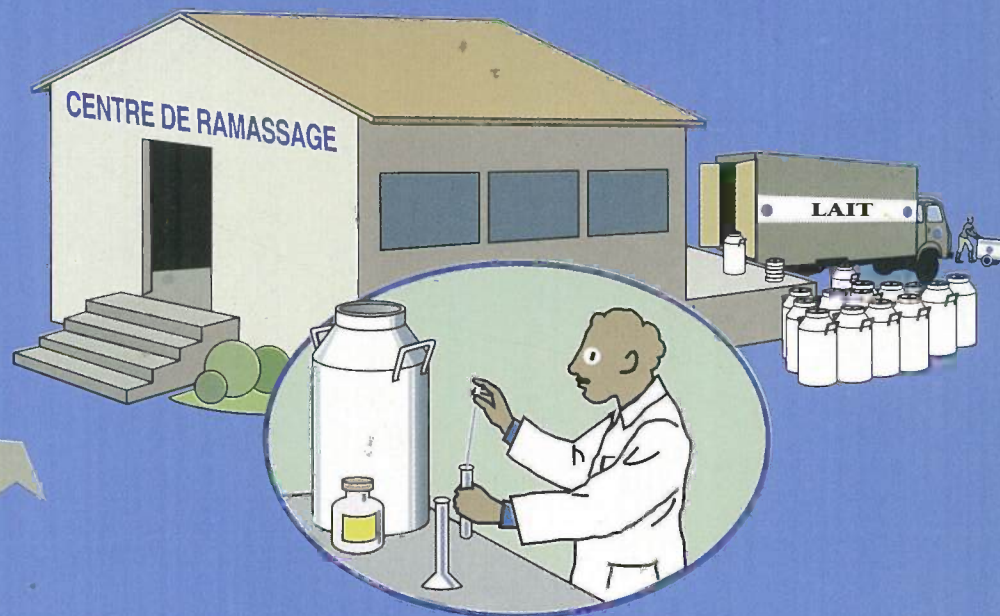
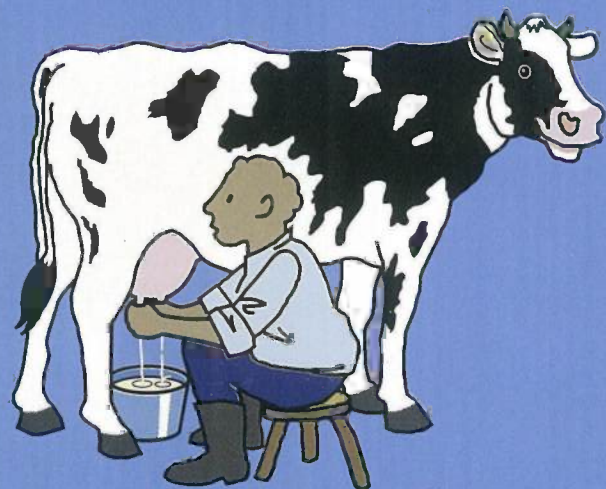




Programme
mondial sur la
lactoperoxydase

MANUEL SUR LA LACTOPEROXYDASE POUR LA MANUTENTION ET LA CONSERVATION DU LAIT



Organisation
des Nations
Unies
pour
l'alimentation
et
l'agriculture

MANUEL SUR LA LACTOPEROXYDASE POUR LA MANUTENTION ET LA CONSERVATION DU LAIT

**Service de la production animale
Division de la production et de la santé animales**

**ORGANISATION DES NATIONS UNIES POUR L'ALIMENTATION ET L'AGRICULTURE
ROME, 1999**

Les appellations employées dans cette publication et la présentation des données qui y figurent n'impliquent de la part de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture aucune prise de position quant au statut juridique des pays, territoires, villes ou zones, ou de leurs autorités, ni quant au tracé de leurs frontières ou limites.

M-26
ISBN 92-5-204254-7

Tous droits réservés. Aucune partie de cette publication ne peut être reproduite, mise en mémoire dans un système de recherche documentaire ni transmise sous quelque forme ou par quelque procédé que ce soit: électronique, mécanique, par photocopie ou autre, sans autorisation préalable du détenteur des droits d'auteur. Toute demande d'autorisation devra être adressée au Directeur de la Division de l'information, Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture, Viale delle Terme di Caracalla, 00100 Rome, Italie, et comporter des indications précises relatives à l'objet et à l'étendue de la reproduction.

© FAO 1999

RENSEIGNEMENTS SUR LE PRÉSENT MANUEL

La FAO, avec l'appui du Gouvernement suédois, supervise des démonstrations du système de conservation du lait par la lactoperoxydase dans quelque 80 pays. En accordant la priorité aux zones où le ramassage du lait est difficile, la FAO fournit, sous forme de sachets préemballés, les produits chimiques nécessaires qui doivent être utilisés par du personnel qualifié dans les centres de ramassage du lait. Le présent manuel explique le mécanisme de ce système antibactérien naturel et inoffensif, ses avantages et ses modalités d'application.

Contexte biologique du système fondé sur la lactoperoxydase

Le lait est le dernier lien nutritionnel entre une femelle mammifère et son petit. C'est un aliment complet et bien équilibré pour le nouveau-né, qu'il s'agisse d'un veau, d'un chevreau ou d'un bébé; il contient aussi des agents antibactériens qui protègent le petit non sevré de diverses maladies infectieuses.

On sait depuis longtemps que le lait, en particulier le premier lait après la mise bas – le colostrum – contient des facteurs immunitaires essentiels à la survie du petit. Depuis des milliers d'années, les bergers savent que les chevreaux, agneaux et veaux nouveau-nés ont besoin du colostrum pour survivre.

Propriétés antibactériennes du lait

La science a maintenant expliqué les connaissances de ces bergers et nous savons que le lait contient plusieurs facteurs antibactériens. Les plus connus sont les immunoglobulines. Le colostrum est particulièrement riche en immunoglobulines qui assurent l'immunisation immédiate du nouveau-né.

Le lait contient aussi d'autres facteurs non spécifiques tels que le lysozyme, la lactoferrine et la peroxydase. Cette dernière, appelée aussi lactoperoxydase, est identique à la peroxydase présente dans la salive et dans le suc gastrique.

La lactoperoxydase n'a pas d'effet antibactérien en soi mais, en présence de thiocyanate oxydé (également présent dans le lait ainsi que dans la salive et le suc gastrique) et de peroxyde d'hydrogène, la réaction chimique qui se développe produit des substances antibactériennes, comme suit:

(Lactoperoxydase)
 $\text{CSN}^- + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow$ Substances antibactériennes

Ces substances antibactériennes interviennent sur le métabolisme des bactéries. Certaines bactéries, telles que les streptocoques et les ferments lactiques, qui font normalement partie de la flore intestinale, sont temporairement neutralisées et se rétablissent ensuite. D'autres bactéries plus dangereuses, y compris la plupart des souches d'*Escherichia coli*, de salmonelle et de *pseudomonas* spp., sont tuées.

L'effet antibactérien est proportionnel à la formation des produits d'oxydation du thiocyanate. Ce phénomène dépend à son tour des concentrations disponibles de thiocyanate et de peroxyde d'hydrogène dans le lait. La lactoperoxydase est toujours présente dans le lait à des concentrations adéquates pour l'action antibactérienne.

Le lait de vache contient environ 30 mg/litre de lactoperoxydase et la concentration est relativement constante pendant toute la lactation. La quantité nécessaire pour l'activité antibactérienne n'est que de 1 mg/litre.

La concentration de thiocyanate est plus variable car elle dépend de l'alimentation de la vache. L'essentiel du thiocyanate provient de divers glucosides dans les produits d'alimentation animale. On relève en général des concentrations de l'ordre de 4 à 5 ppm. La salive humaine, toutefois, en contiendrait de 50 à 300 ppm. Et les sucs gastriques humains, dans lesquels le thiocyanate semble être activement sécrété, en contiennent 40 à 50 ppm, complétant ainsi la concentration trop basse de thiocyanate dans le lait.

Le troisième élément du système, le peroxyde d'hydrogène, n'est pas normalement présent dans le lait et sa

source *in vivo* n'est pas tout à fait claire. Cependant, on en a relevé des traces dans le lait qui vient d'être traité et cela résulte peut-être du métabolisme du tissu mammaire et des leucocytes. Une autre source pourrait être l'oxydase de la xantine du lait qui réagit avec un substrat, par exemple l'hypoxantine.

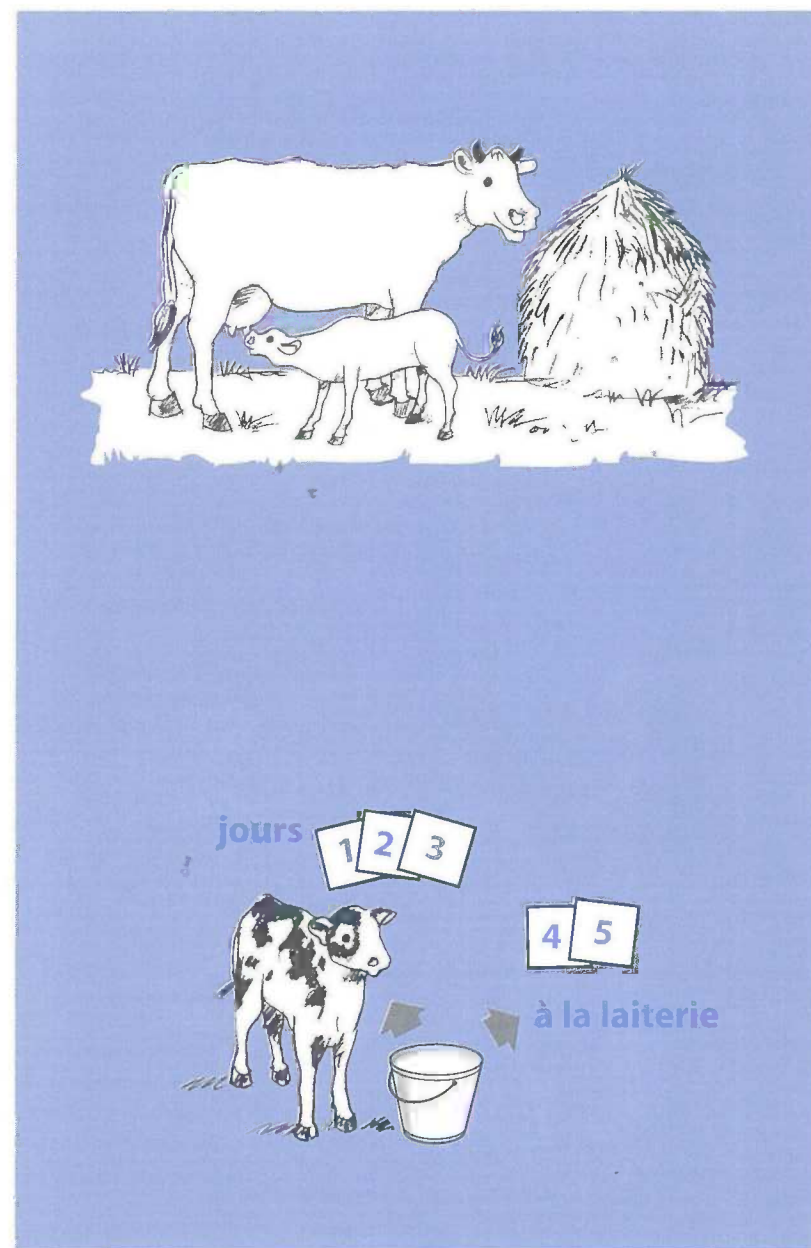
La combinaison de ces trois réactions provoque le déclenchement des propriétés bactériostatiques du lait qui vient d'être traité, et qui durent une ou deux heures, pendant que le lait est tété et qu'il séjourne dans l'estomac du petit. Des études ont également montré que le suc gastrique contient le même système de formation du peroxyde, ce qui maintient l'action antibactérienne contre les infections intestinales.

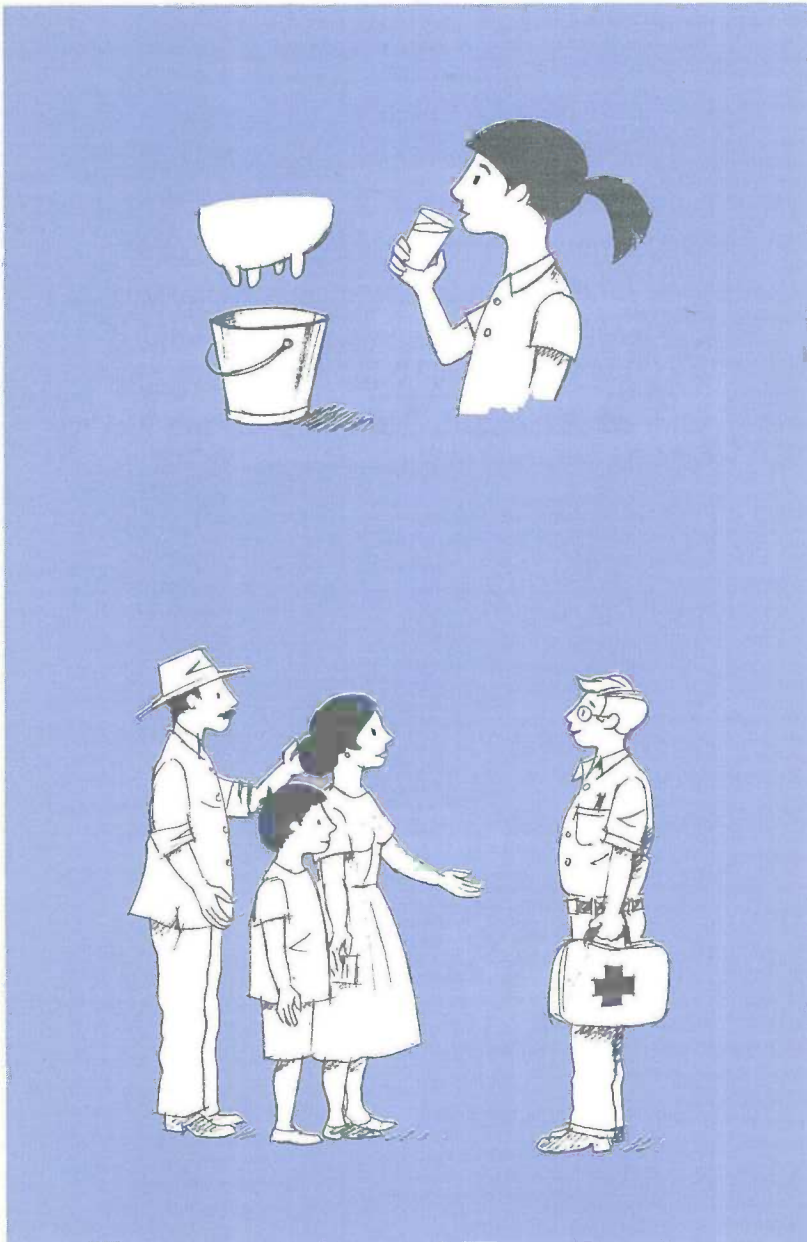
Les streptocoques d'acide lactique de l'intestin produisent du peroxyde d'hydrogène qui peut compléter le système de la lactoperoxydase et des sources similaires de la substance chimique semblent exister dans la salive, où le système aurait aussi une action contre les caries. Ainsi, le système de la lactoperoxydase dans le lait de mamelles saines est également actif dans le tube digestif du veau sous la mère.

L'importance du système de la lactoperoxydase naturelle pour les jeunes veaux, chevreaux, etc.

Le lait contient plusieurs facteurs et systèmes antibactériens qui protègent le nouveau-né sous la mère contre les infections qui pourraient provoquer des maladies et des troubles digestifs.

Les premiers jours après la mise bas, le lait de la mère est riche en immunoglobulines pour l'immunisation immédiate du nouveau-né.





Pour protéger de façon spécifique l'estomac et les intestins du nouveau-né contre les infections bactériennes, on dispose du système lactoperoxydase/thiocyanate/peroxyde d'hydrogène.

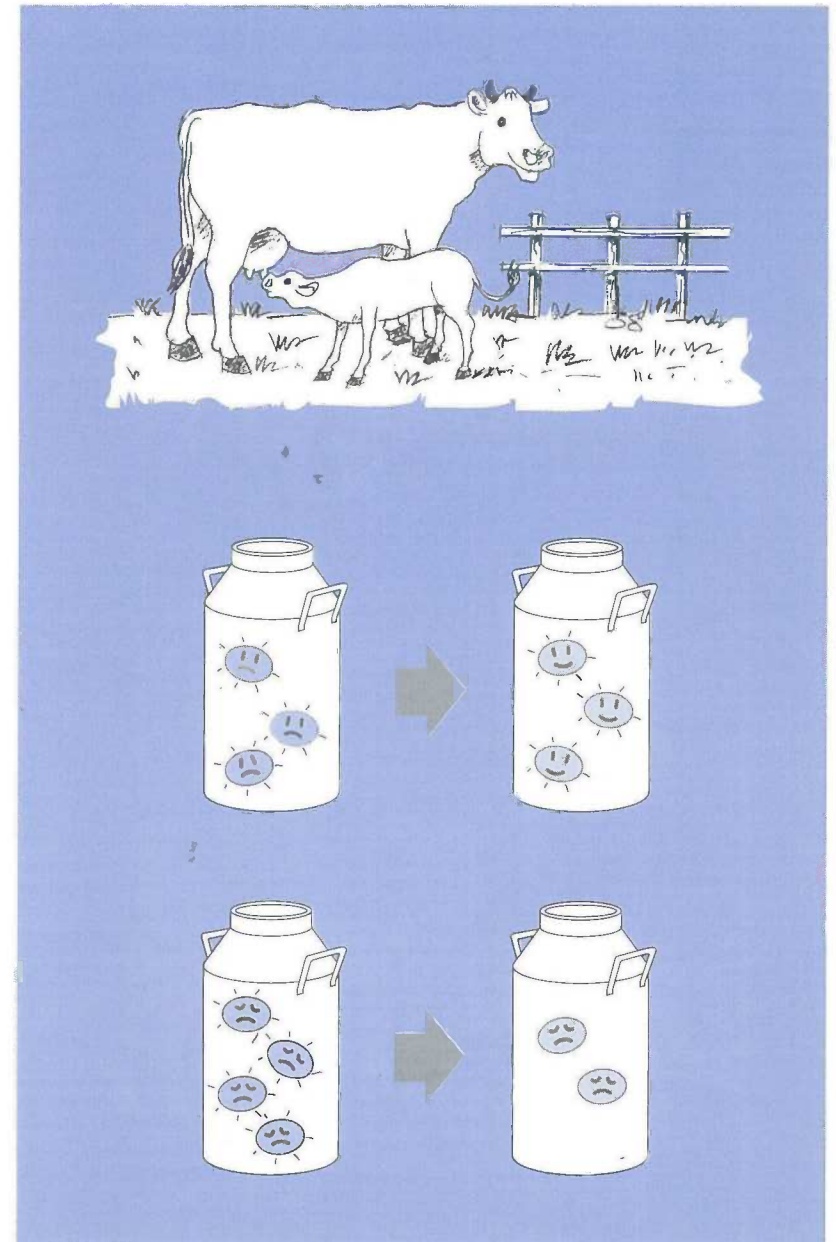
Le système fondé sur la lactoperoxydase comporte trois éléments:

- L'enzyme *lactoperoxydase* qui est abondante dans le lait.
- Le *thiocyanate*, dont la concentration dans le lait est insuffisante et variable.
- Le *peroxyde d'hydrogène* dont le lait ne contient que des traces.

Lorsque le veau ou le chevreau tète sa mère, le lait se mélange à la salive et au suc gastrique pour compléter les faibles concentrations de thiocyanate et de peroxyde d'hydrogène, ce qui déclenche une réaction antibactérienne.

La flore bactérienne intestinale normale, par exemple les streptocoques et les ferments lactiques, n'est que temporairement neutralisée, et elle se rétablit ensuite. Il s'agit d'un effet bactériostatique.

D'autres bactéries, parfois dangereuses comme certains *coli*, salmonella et *Pseudomonas* spp., sont tuées. Il s'agit d'un effet bactéricide.



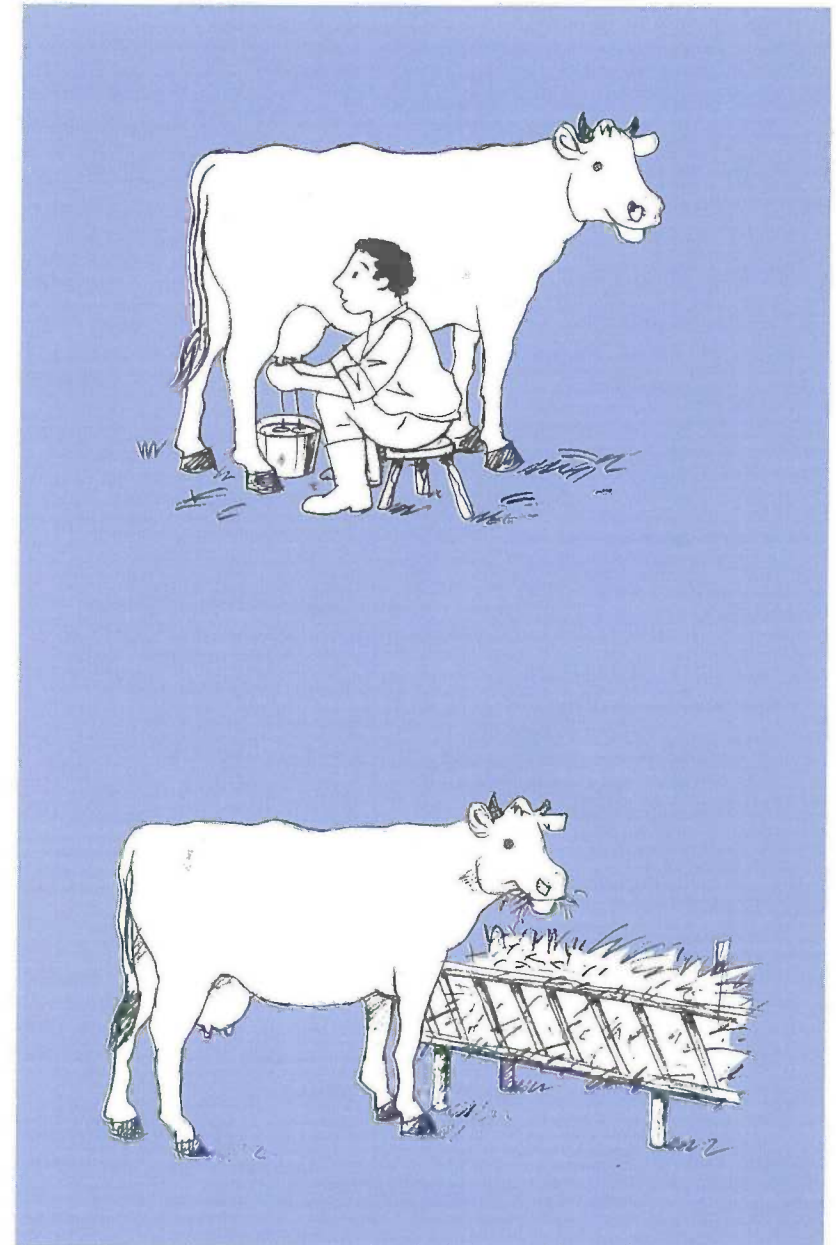
UTILISATION DE LA LACTOPEROXYDASE POUR LA MANUTENTION ET LA CONSERVATION DU LAIT

A la suite d'études fondamentales sur le système naturel de lactoperoxydase, une méthode basée sur ce système a été mise au point en Suède pour conserver le lait à la température ambiante. Des essais sur le terrain ont été effectués au Kenya, à Sri Lanka et dans plusieurs autres pays chauds, avec de bons résultats. A la suite d'essais toxicologiques et après examen par le Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires, la méthode a été finalement approuvée par la Commission du Codex Alimentarius en 1991 pour application sur le terrain. Des directives pour l'application du Code d'usages concernant la conservation du lait cru par le système lactoperoxydase ont été adoptées (voir annexes I et II – Spécifications techniques d'identité et de pureté pour le thiocyanate de sodium et le percarbonate de sodium).

Comment recréer le système naturel de la lactoperoxydase pour conserver le lait

Dans le lait qui vient d'être traité, l'activité antibactérienne est plutôt faible et ne dure qu'une ou deux heures parce que les concentrations de thiocyanate et de peroxyde d'hydrogène dans le lait sont trop basses.

La concentration de thiocyanate dans le lait frais varie selon le type de fourrage consommé.





Les choux par exemple sont riches en éléments contenant du soufre, sources du thiocyanate dans le lait.

Il est maintenant possible de réactiver la propriété antibactérienne en rajoutant du thiocyanate et du peroxyde d'hydrogène, c'est-à-dire en renforçant ces éléments comme le font la salive et le suc gastrique d'un veau sous la mère.

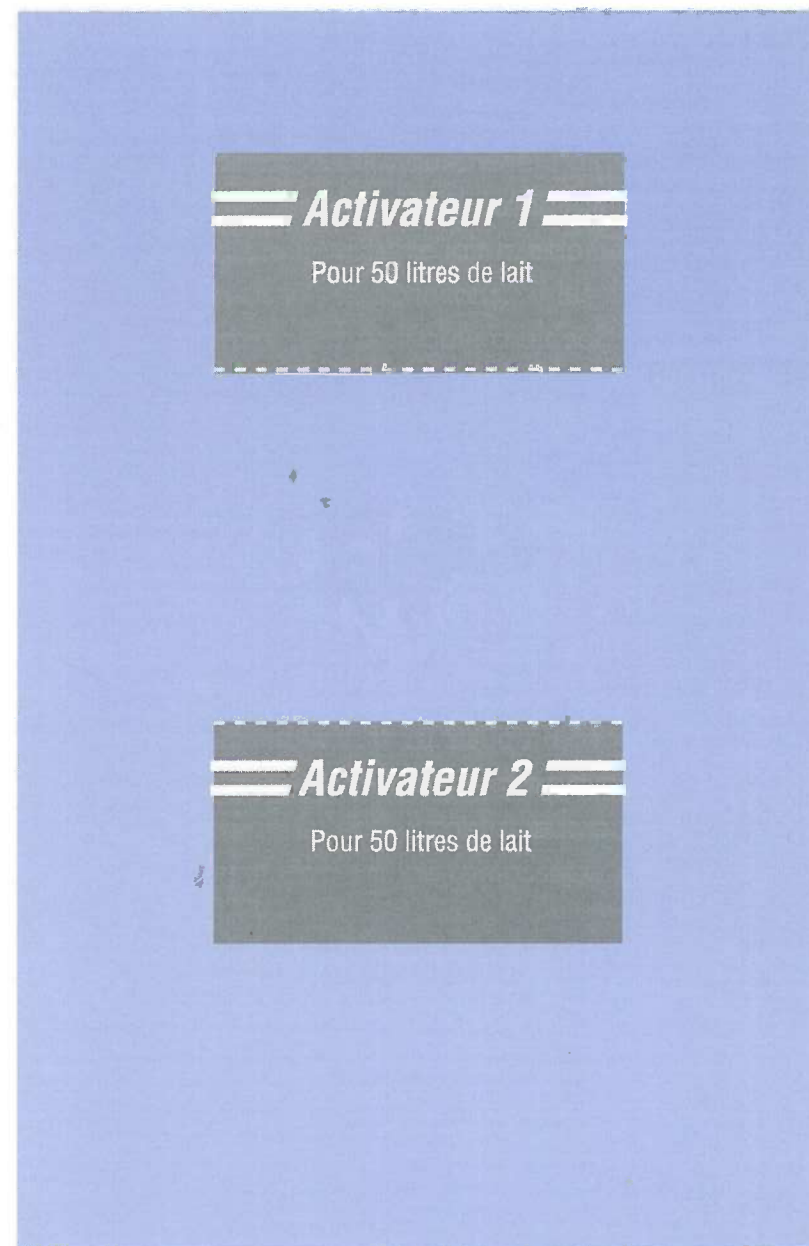
Avant d'utiliser le système fondé sur la lactoperoxydase pour conserver le lait, la concentration initiale du thiocyanate dans le lait devra être analysée par le centre de ramassage du lait, ou par les autorités sanitaires locales. Il convient de suivre la méthode décrite à l'annexe III.

Sur la base de ces résultats, la concentration du thiocyanate dans le lait est ajustée à 15 ppm en ajoutant la quantité prépesée de thiocyanate en solution. En général, la concentration de thiocyanate dans le lait est d'environ 4-5 ppm, et il convient donc d'en ajouter 10 ppm. Le thiocyanate est présenté comme activateur 1 (A1) et il est généralement conditionné sous forme liquide.

L'activateur 2 (A2) est du peroxyde d'hydrogène, généralement conditionné sous forme de peroxyhydrate de carbonate de sodium en poudre qui donne du peroxyde d'hydrogène en quantité égale à 8-9 ppm lorsqu'on le dissout dans le lait.

La présentation en poudre de l'activateur 2 est nécessaire pour une répartition homogène dans le lait, afin d'éviter un surdosage local et la destruction de certains éléments du lait.

S'il est utilisé correctement, le système fondé sur la lactoperoxydase améliore l'hygiène du lait cru et prolonge de plusieurs heures sa durée de conservation. Ce temps supplémentaire est extrêmement précieux pour les petits agriculteurs, en particulier ceux qui vivent dans les zones éloignées d'une grande laiterie.

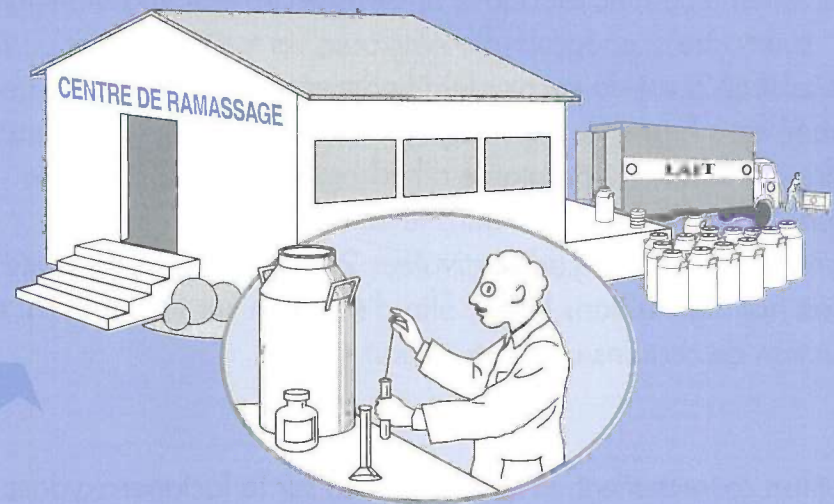


ACTIVATION DE LA LACTOPEROXYDASE DANS LES BIDONS DE LAIT

**Important! Le système fondé sur la lactoperoxydase
doit être utilisé par du personnel qualifié
au centre de ramassage du lait.**



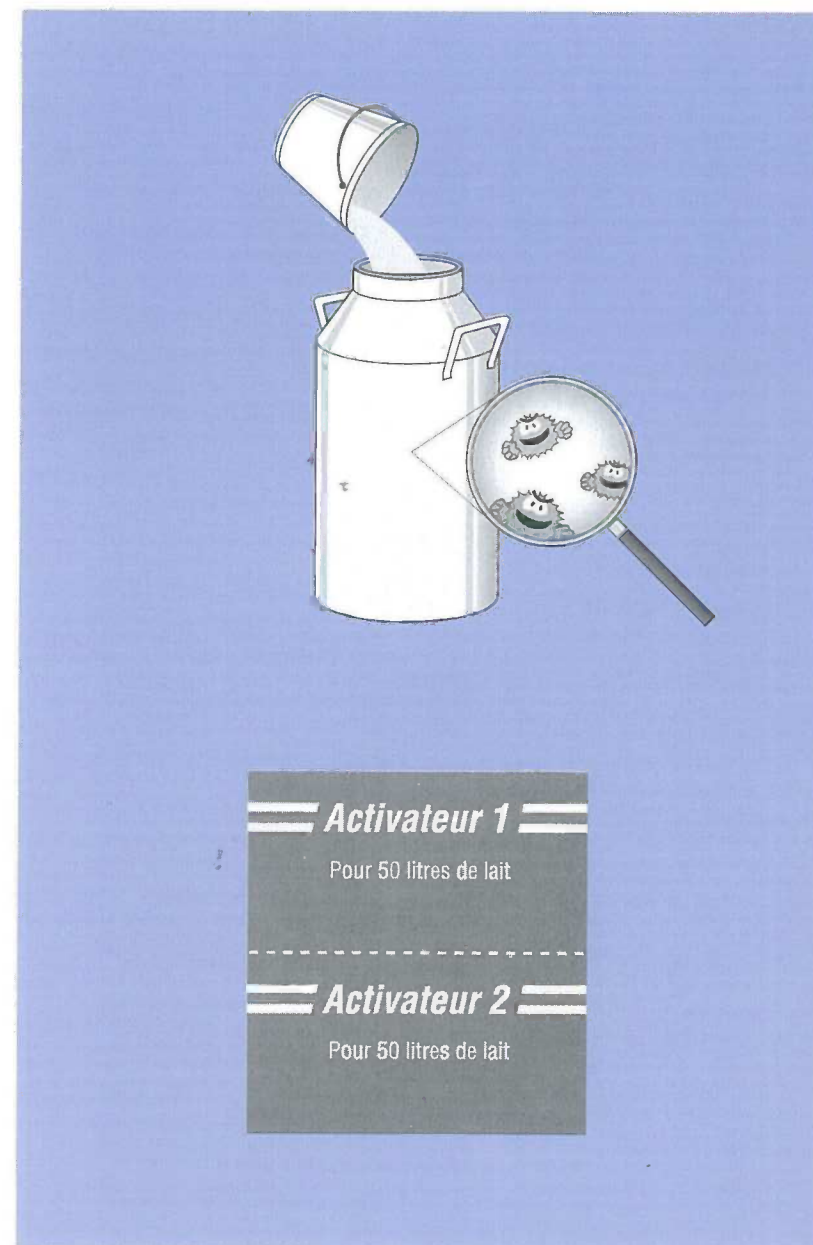
Traite à
la ferme

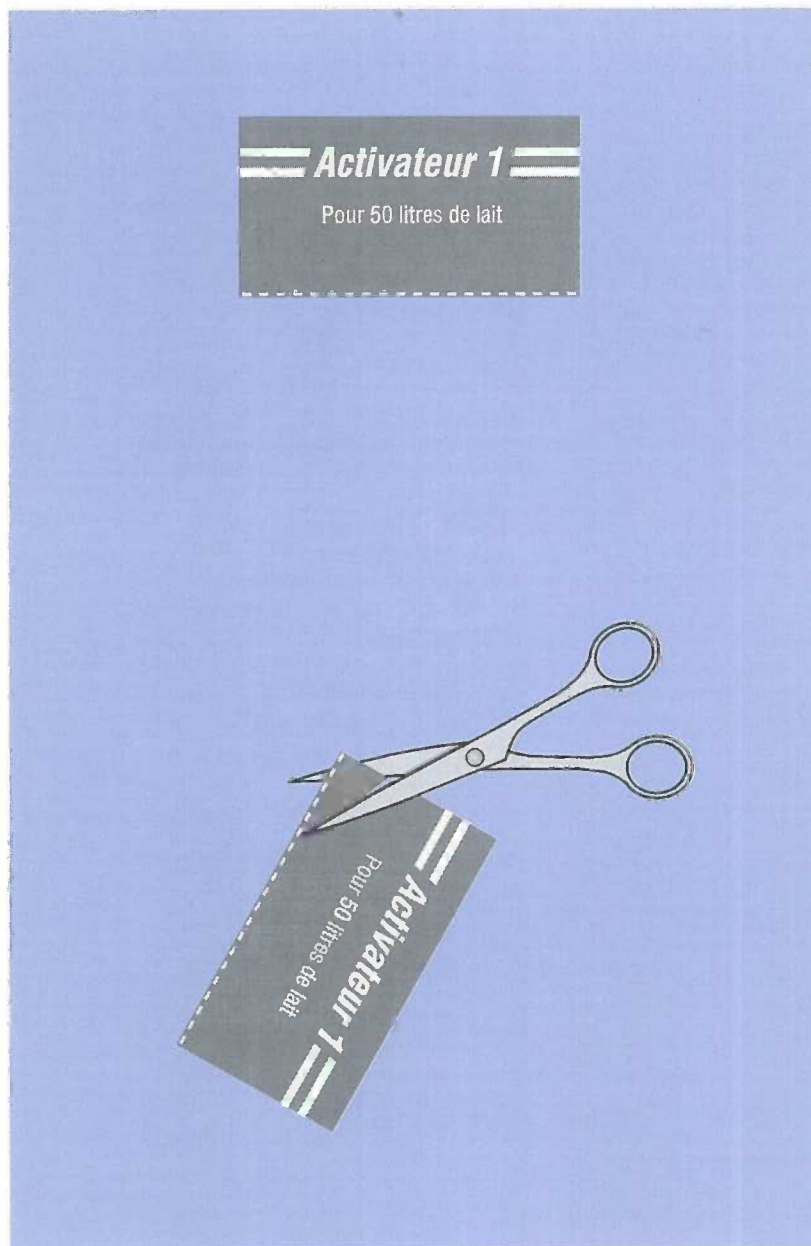


Utilisation du système
fondé sur la lactoperoxydase

1. Remplir complètement le bidon

Séparer les deux sachets préemballés (il existe des préparations pour 20-30 litres ou pour 40-50 litres). Il est *très important* que le thiocyanate, l'activateur 1, soit versé en premier.



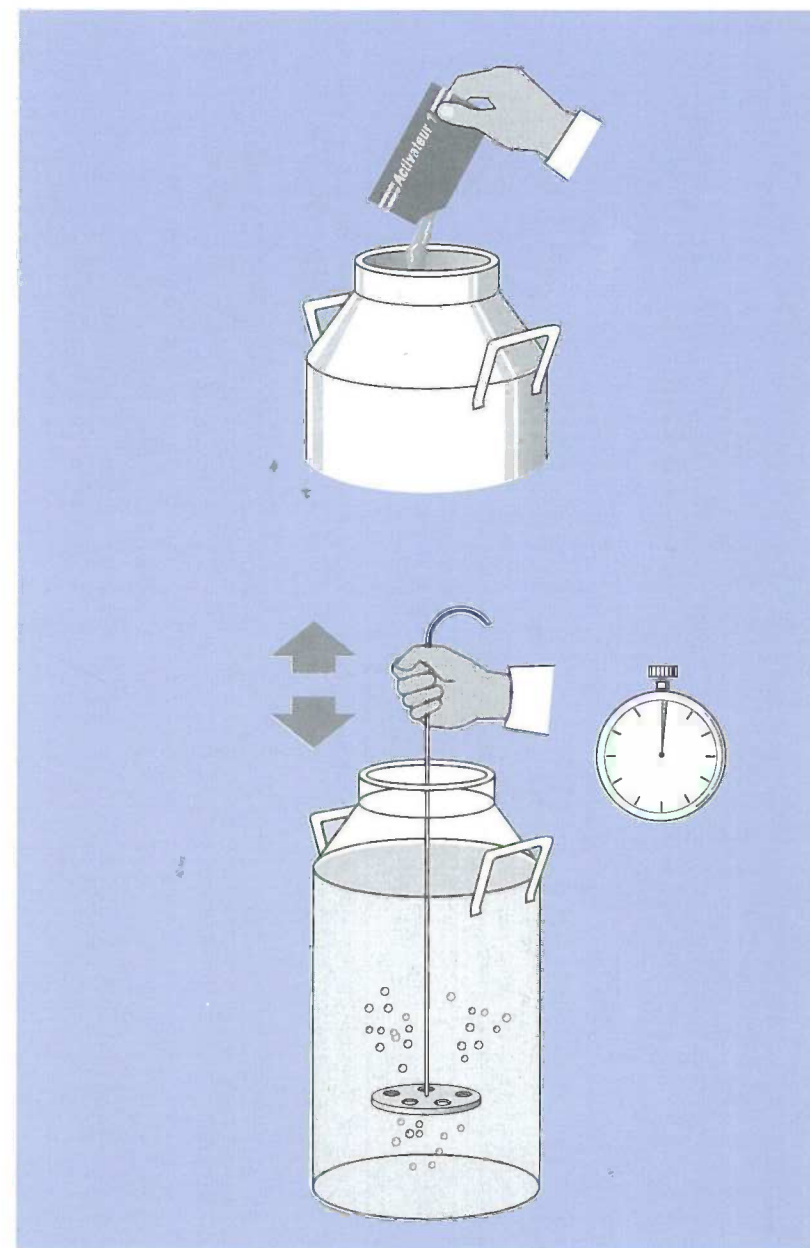


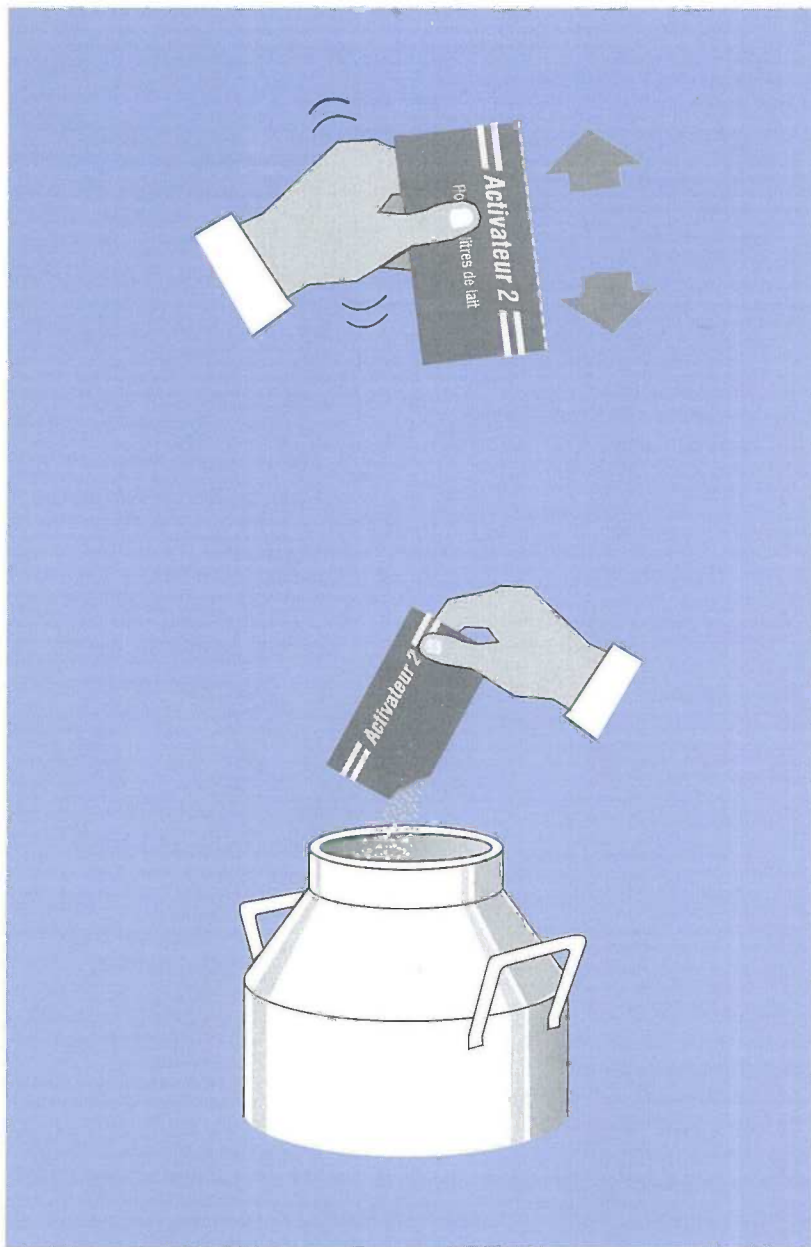
2. Prendre le sachet 1.

3. L'ouvrir avec des ciseaux.

4. Verser le liquide dans le lait en pressant le sachet entre les doigts. Vider complètement le sachet dans le bidon de lait.

5. Remuer pendant 30 secondes avec un agitateur propre.





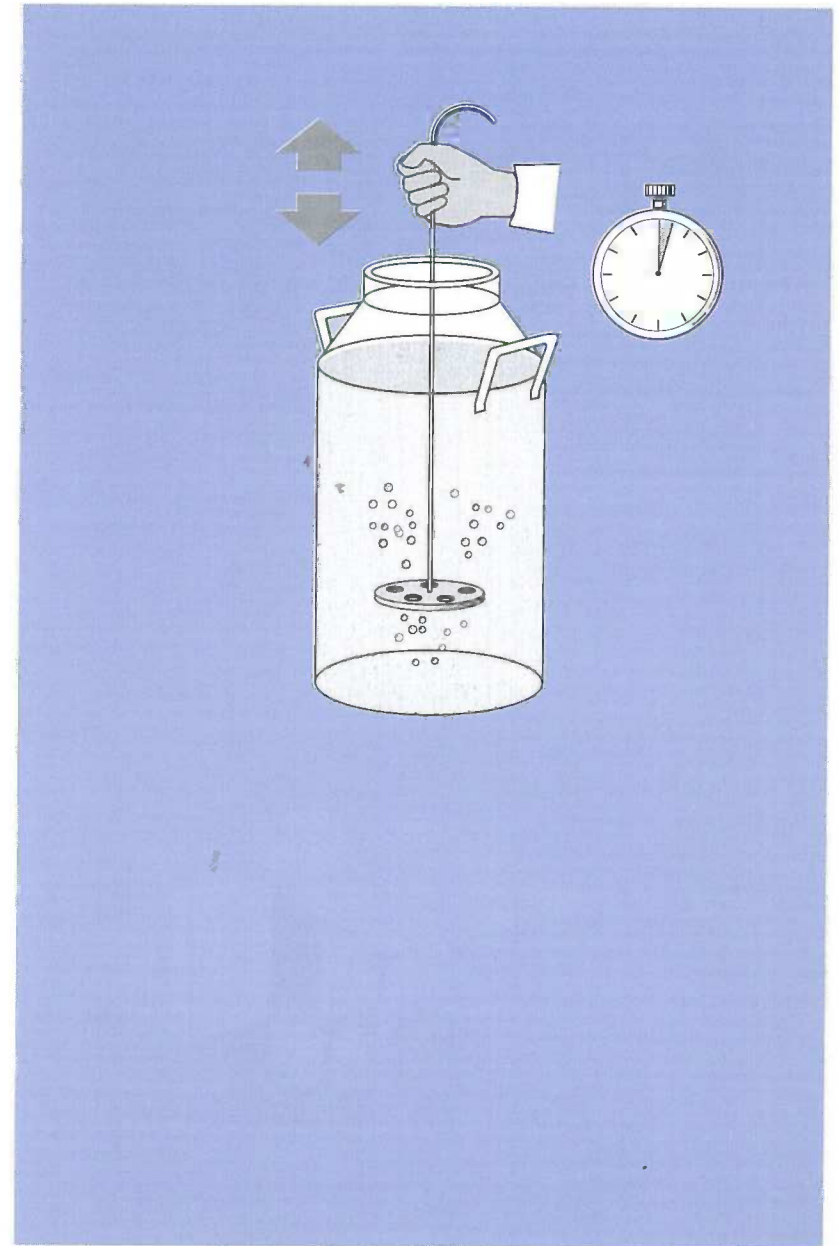
6. Prendre le sachet 2.

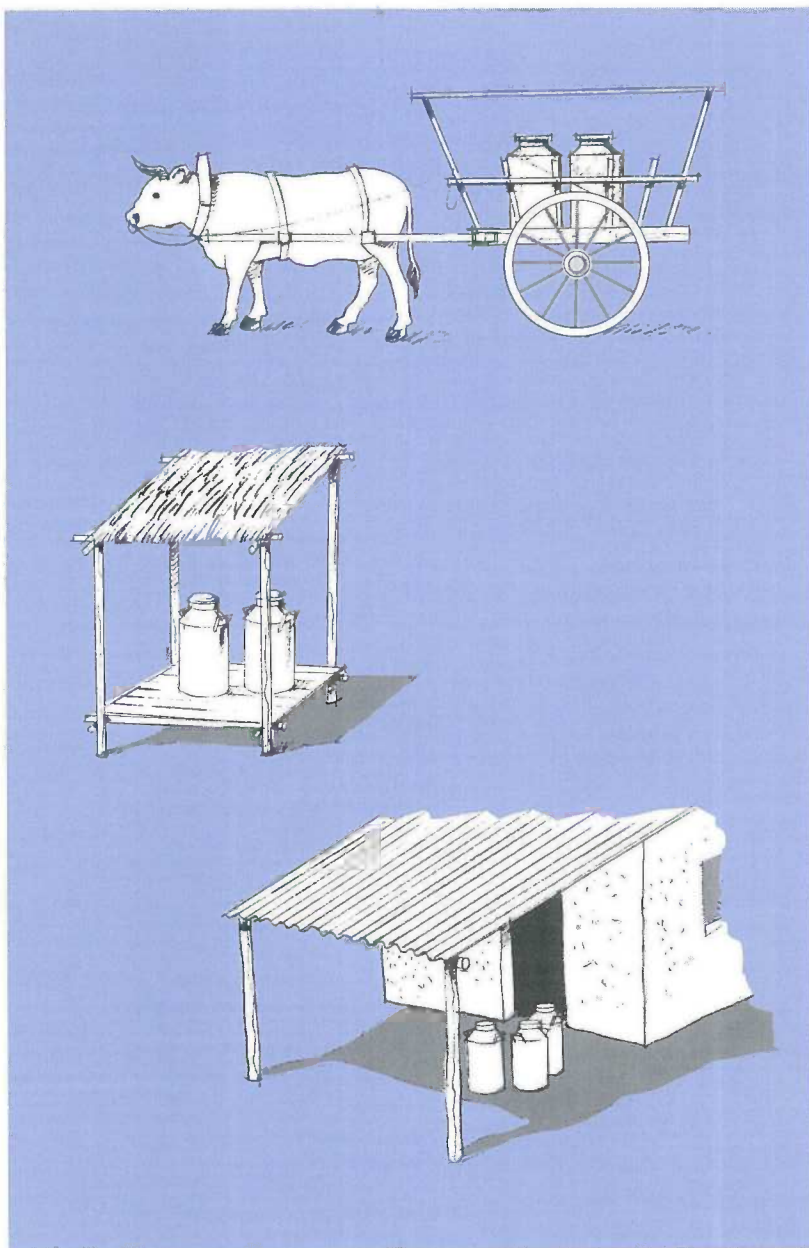
7. Secouer le sachet afin que le contenu se trouve d'un côté et découper l'autre extrémité avec des ciseaux.

8. Verser le contenu dans le lait, assurez-vous que le sachet est parfaitement vide.

9. Agiter le lait pendant deux minutes environ.

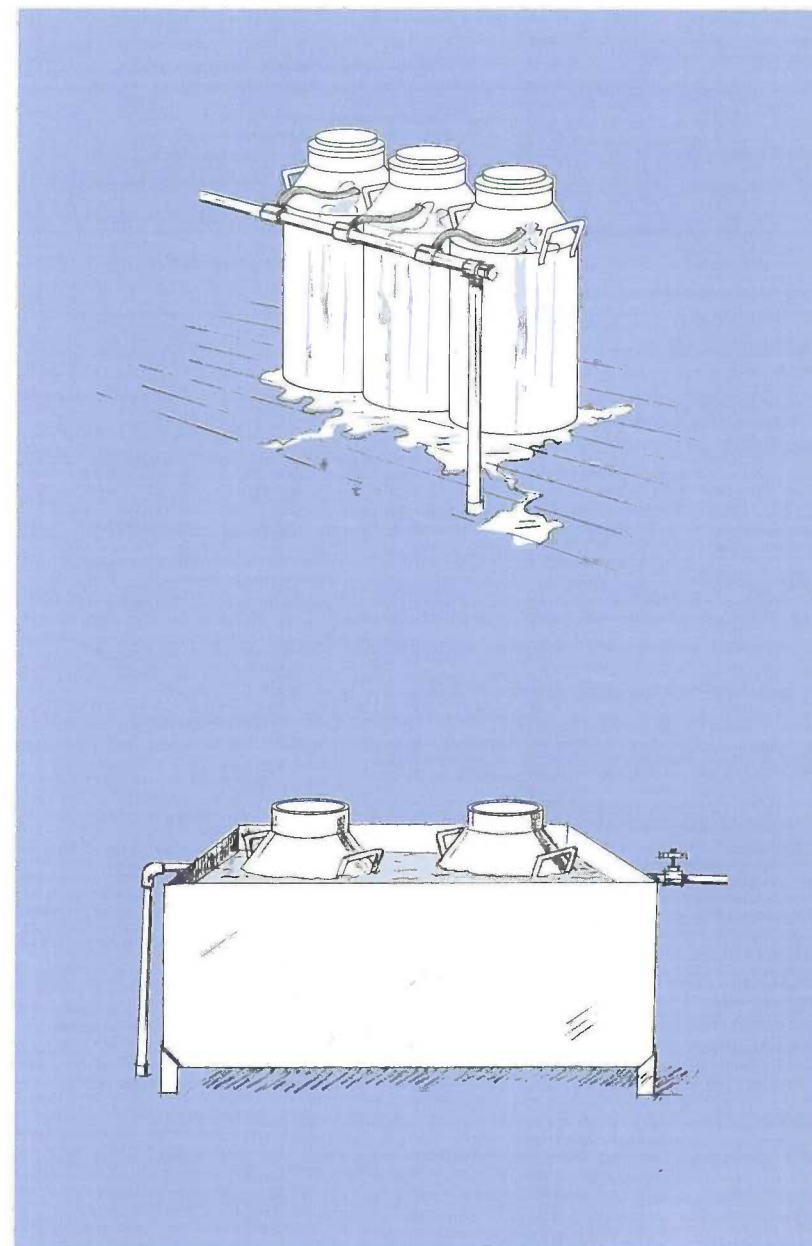
La réaction enzymatique ainsi déclenchée est achevée au bout de 5 minutes environ. A ce stade, il n'y a plus de peroxyde d'hydrogène dans le lait.

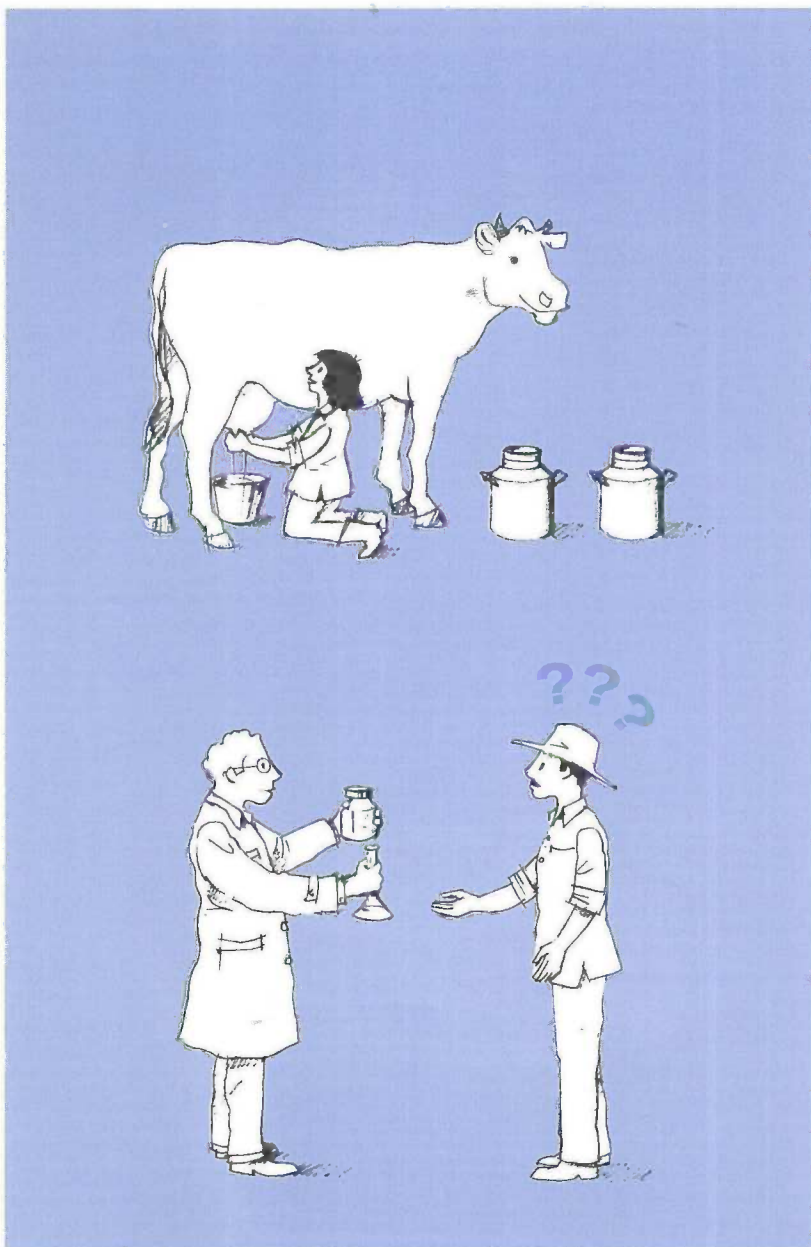




Si vous conservez le lait à l'ombre ou dans un local sombre et bien aéré à environ 30 °C, l'effet du système de conservation fondé sur la lactoperoxydase dure sept à huit heures.

Si vous pouvez refroidir le lait à 15-20 °C, le système fondé sur la lactoperoxydase permet de conserver le lait du soir au lendemain matin, et de ne le ramasser qu'une fois par jour.





Selon le Code d'usages concernant l'emploi du système basé sur la lactoperoxydase pour conserver le lait, «la méthode n'est pas destinée à être appliquée par les producteurs mais dans un centre de collecte approprié». En effet, il y a de bonnes raisons à cela, selon la taille des exploitations agricoles.

De nombreux agriculteurs ne produisent qu'une petite quantité de lait qui peut varier d'un jour à l'autre.

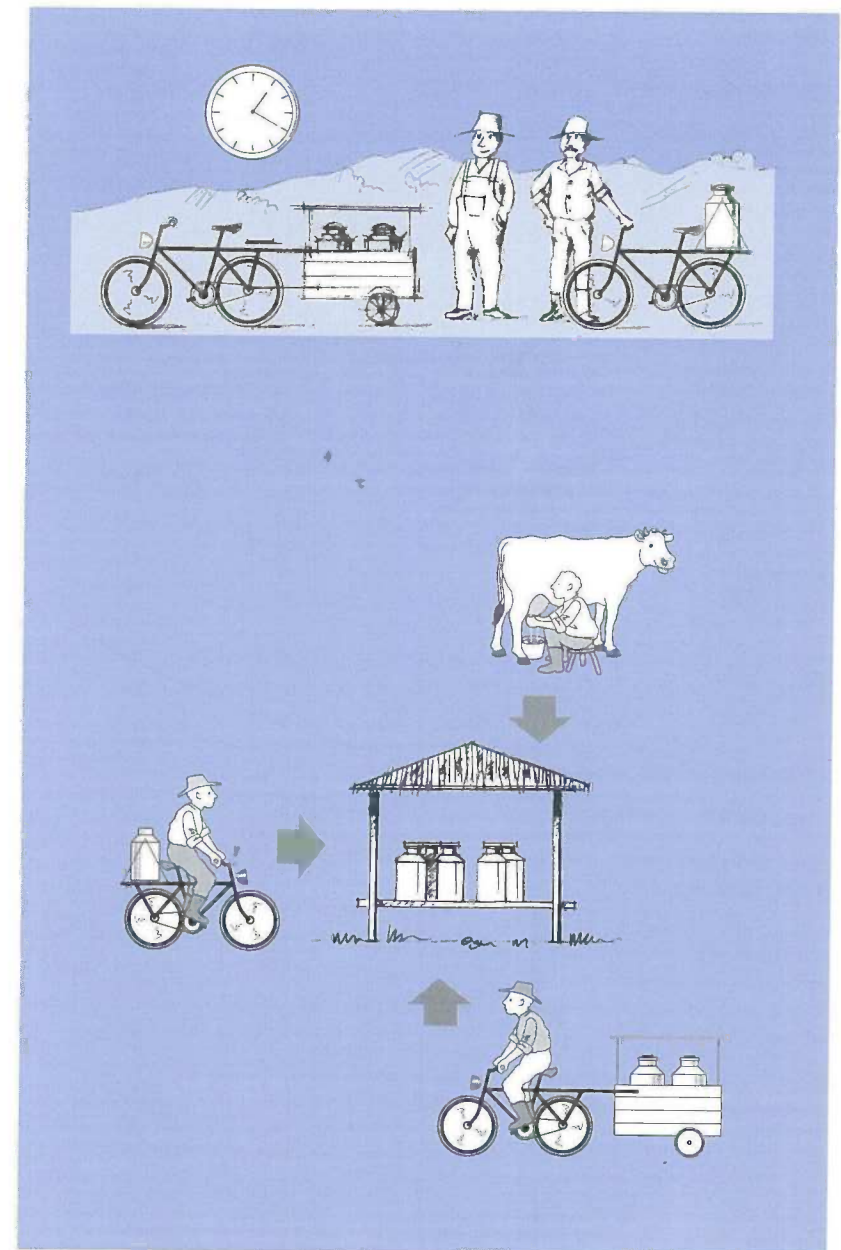
Il n'est pas possible de préparer des doses d'activateurs pour des quantités de lait variables et faibles.

De nombreux petits agriculteurs pourraient aussi avoir des difficultés à appliquer correctement la méthode. Les résultats pourraient varier au détriment de la qualité du lait.

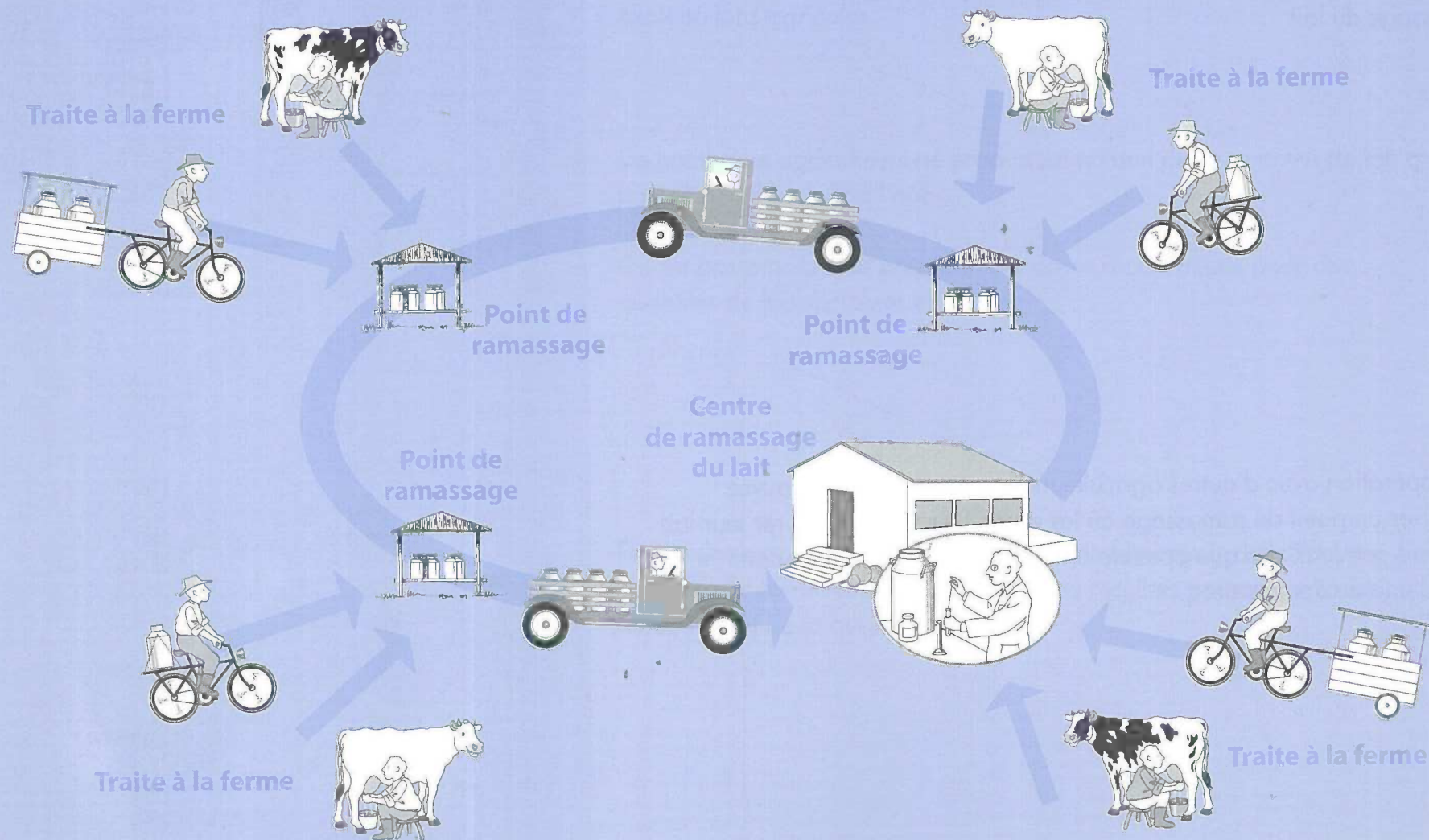
RAMASSAGE DU LAIT

La laiterie est souvent éloignée et les agriculteurs doivent apporter leur lait au bord de la route la plus proche et attendre le passage du camion de ramassage du lait.

En coopération avec d'autres agriculteurs du voisinage, vous pouvez organiser un point de ramassage où les agriculteurs peuvent livrer leur lait deux fois par jour, dès que possible après la traite, c'est-à-dire dans un délai d'une ou deux heures.



Il vaut mieux multiplier les points de ramassage faciles à joindre en peu de temps que d'avoir un nombre limité de points de ramassage trop éloignés des petits agriculteurs.



TESTS DE QUALITÉ DE L'HYGIÈNE DU LAIT AUX POINTS DE RAMASSAGE

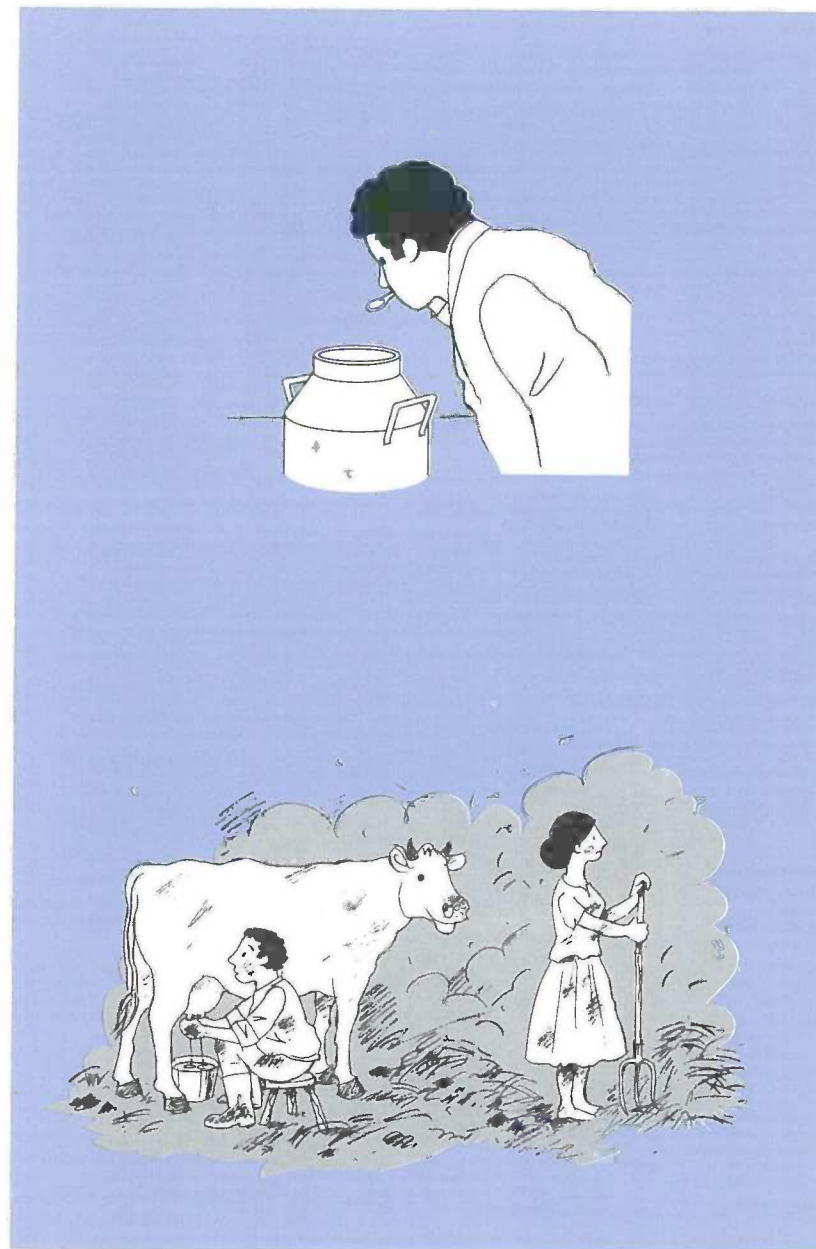
Il y a trois tests simples pour vérifier la qualité du lait:

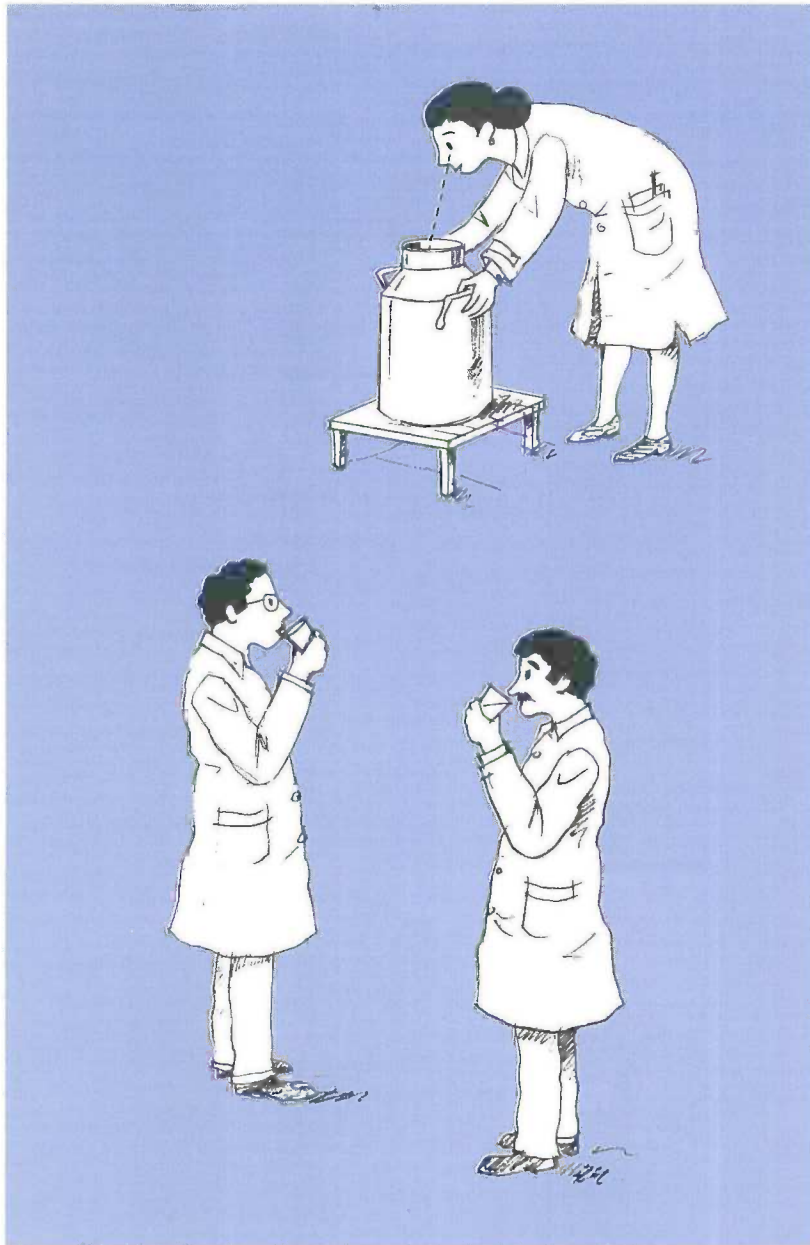
- tests sensoriels
- test du caillage à l'ébullition
- test de l'alcool

Tests sensoriels

Le lait de chaque bidon destiné au transport est examiné du point de vue de l'apparence, de la couleur, de la propreté et de l'odeur.

S'il y a des souillures visibles telles que paille ou fumier dans le lait, la traite et la manutention n'ont pas été effectuées conformément aux bonnes pratiques en matière d'hygiène. Cela doit être expliqué au producteur. Le lait n'a pas la même couleur selon les espèces. Le lait de vache et de brebis est très légèrement jaune, tandis que le lait de bufflonne et de chèvre est parfaitement blanc.





Les écarts par rapport à la couleur normale sont un signe de lésions de la mamelle; coloration rougeâtre – présence de sang ou coloration jaunâtre – présence de pus.

Lorsque l'odeur n'est pas normale, il convient aussi d'en vérifier le goût. Si l'odeur et le goût sont légèrement aigres, il ne faut pas accepter le lait car il ne pourra pas subir de traitement thermique à la laiterie. Les tests sensoriels sont rapides et bon marché et, avec du personnel qualifié, ils sont très fiables.

Outre les tests sensoriels, il y a un certain nombre de tests plus «objectifs» qui peuvent être effectués aux points de ramassage.

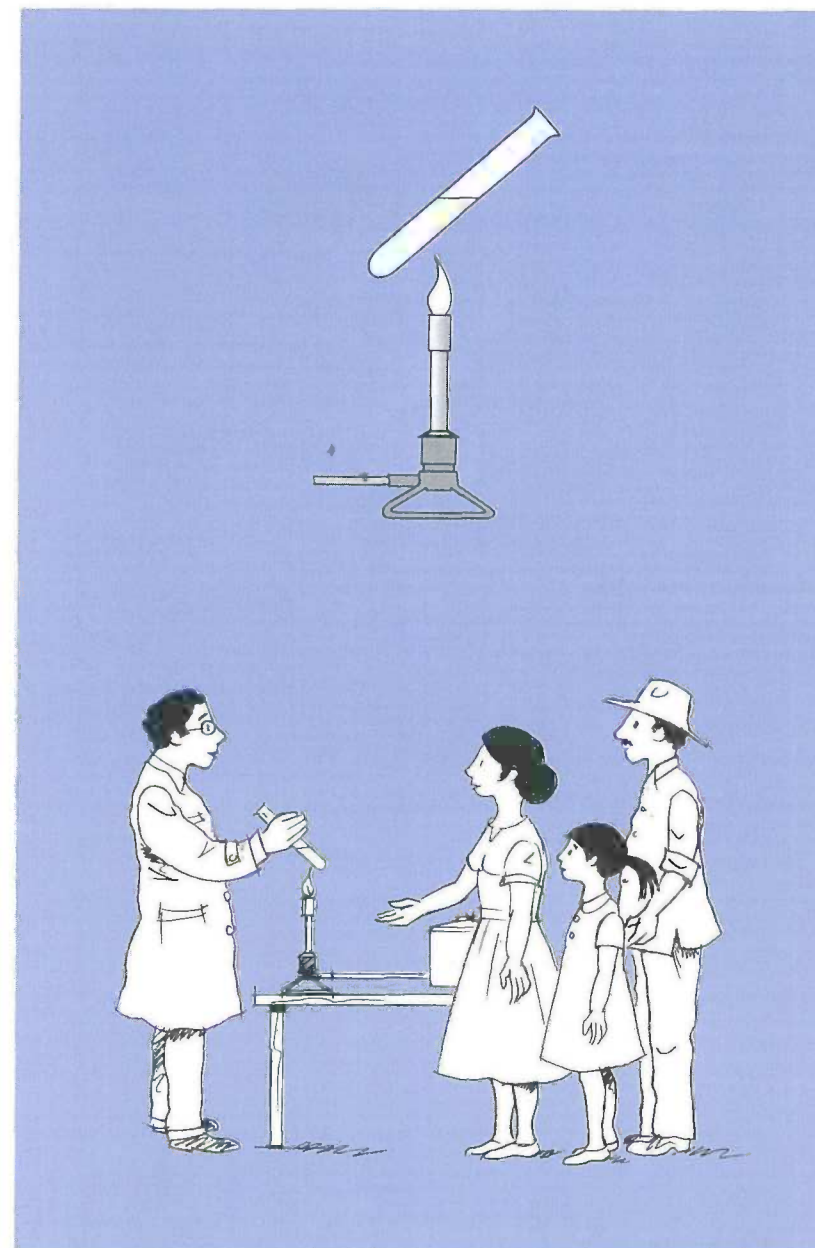
Test du caillage à l'ébullition

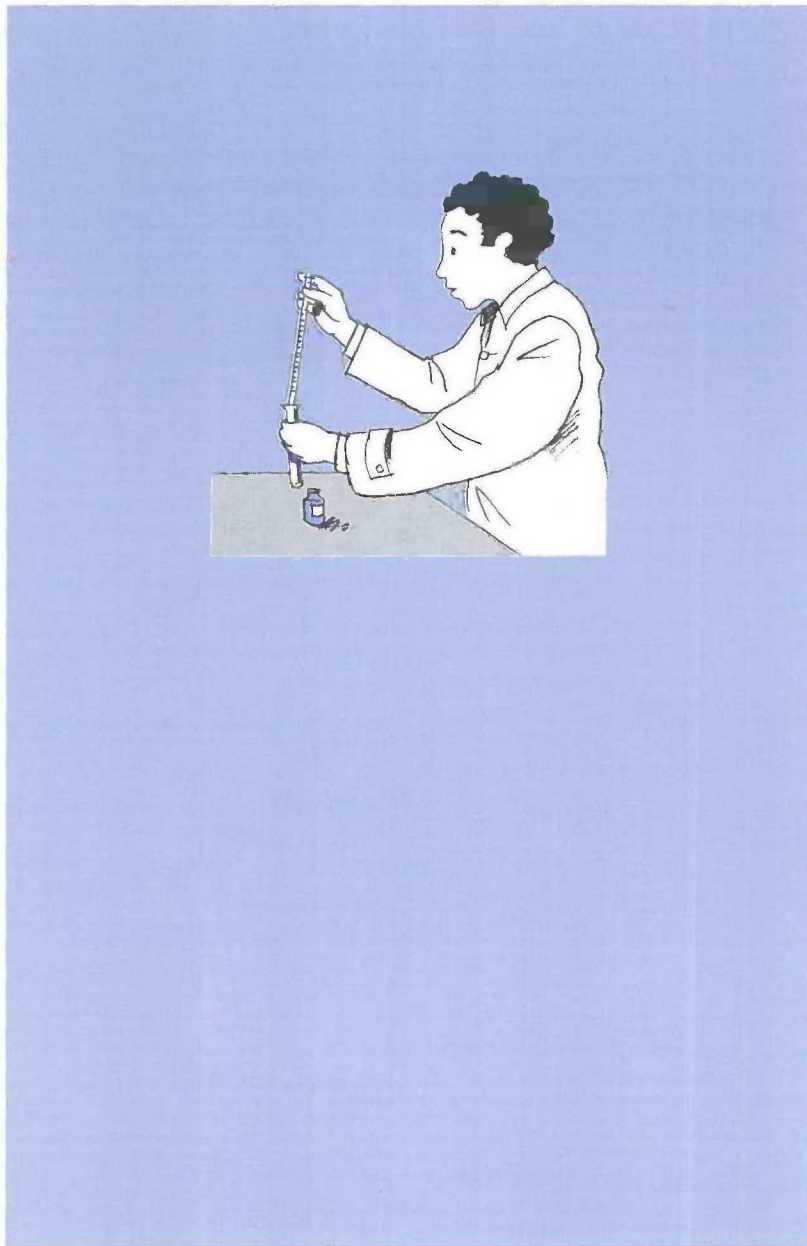
Une petite quantité de lait est portée à ébullition pour vérifier s'il caille ou non.

Si le lait caille, il est aigre et ne peut plus subir de traitement thermique (par exemple par pasteurisation) et il doit donc être refusé.

Le test du caillage à l'ébullition est simple, rapide et bon marché, et il peut être effectué en présence des producteurs de lait, qui comprennent donc et acceptent les résultats.

Le test doit toujours être effectué en association avec les tests sensoriels.





Le test à l'alcool

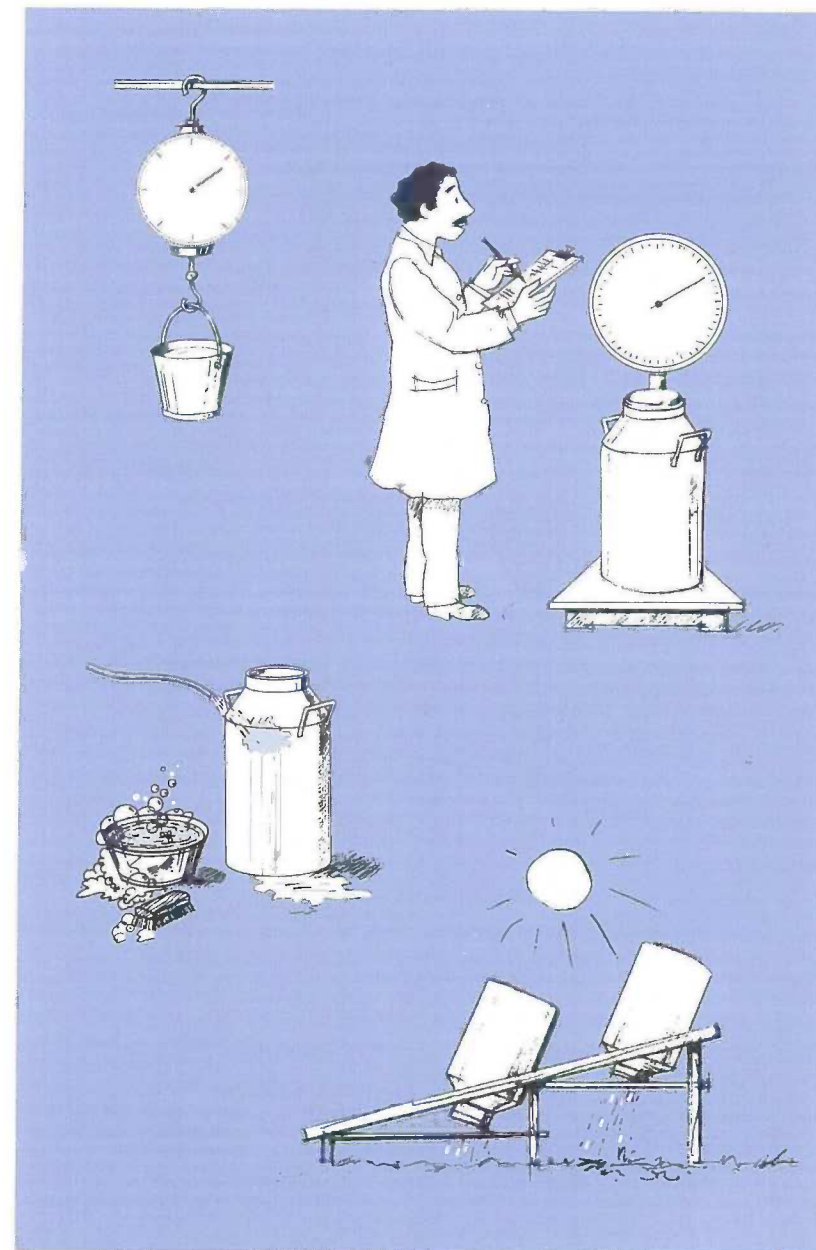
Ce test est basé sur le fait que le lait dont l'acidité est accrue, c'est-à-dire qui devient aigre, forme des flocons lorsqu'il est mélangé avec un volume égal ou double d'alcool (68 pour cent volume/volume – v/v).

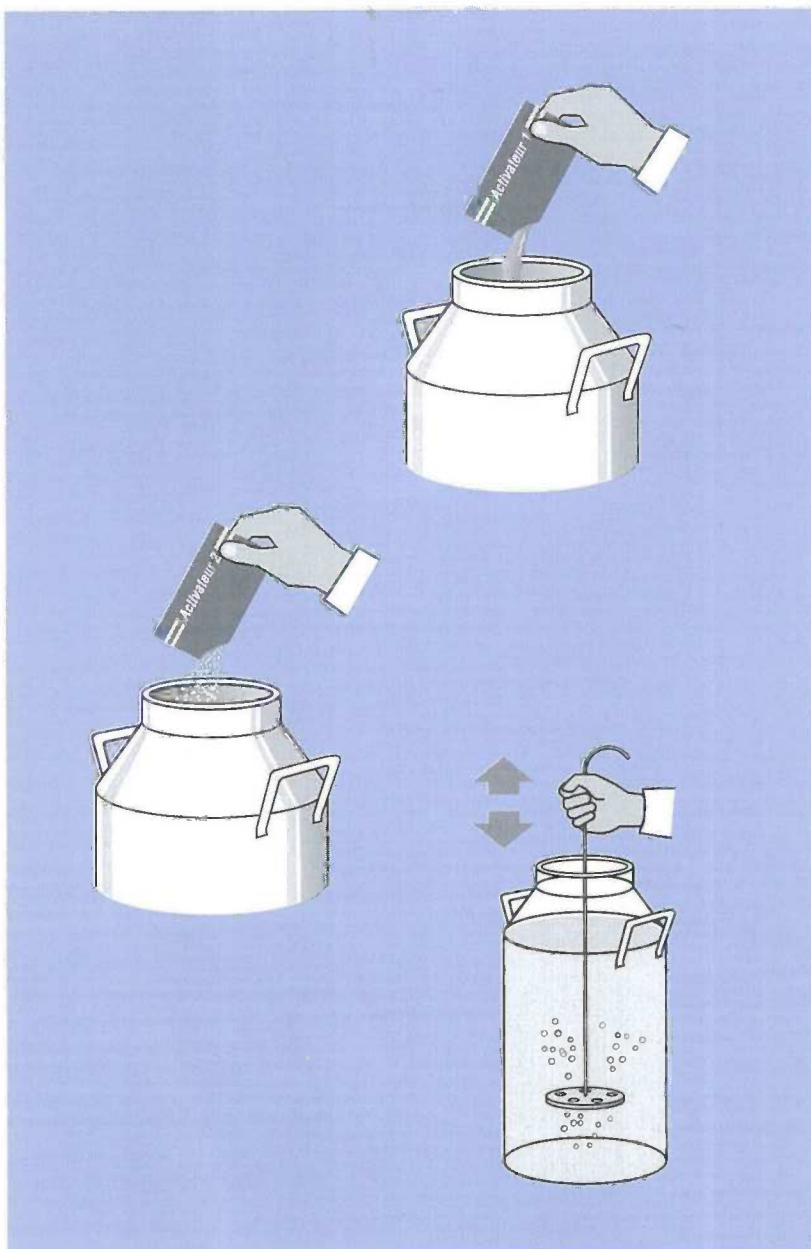
Le lait frais peut être dilué avec de l'alcool sans qu'apparaissent de flocons. Si les flocons apparaissent lorsqu'il est mélangé avec une quantité égale d'alcool, c'est qu'il y a augmentation de l'acidité. Il se peut que ce lait ne caille pas à l'ébullition, mais il doit subir un traitement thermique dès que possible. S'il y a apparition de flocons lorsqu'on ajoute le double d'alcool, c'est qu'il est aigre.

Le test à l'alcool est rapide, bon marché et facile à appliquer. En association avec les tests sensoriels et le test du caillage à l'ébullition, il confirme le niveau d'hygiène du lait livré par le producteur au point de ramassage.

Après le contrôle de qualité, le volume (ou le poids) du lait est mesuré et il est alors versé dans des bidons de transport de 40-50 litres.

Ces bidons appartiennent en général à l'organisation de ramassage, c'est-à-dire à la laiterie, et doivent être propres et disponibles au point de ramassage avant la livraison du lait.





Dès que le bidon est plein, les activateurs doivent être ajoutés comme indiqué.

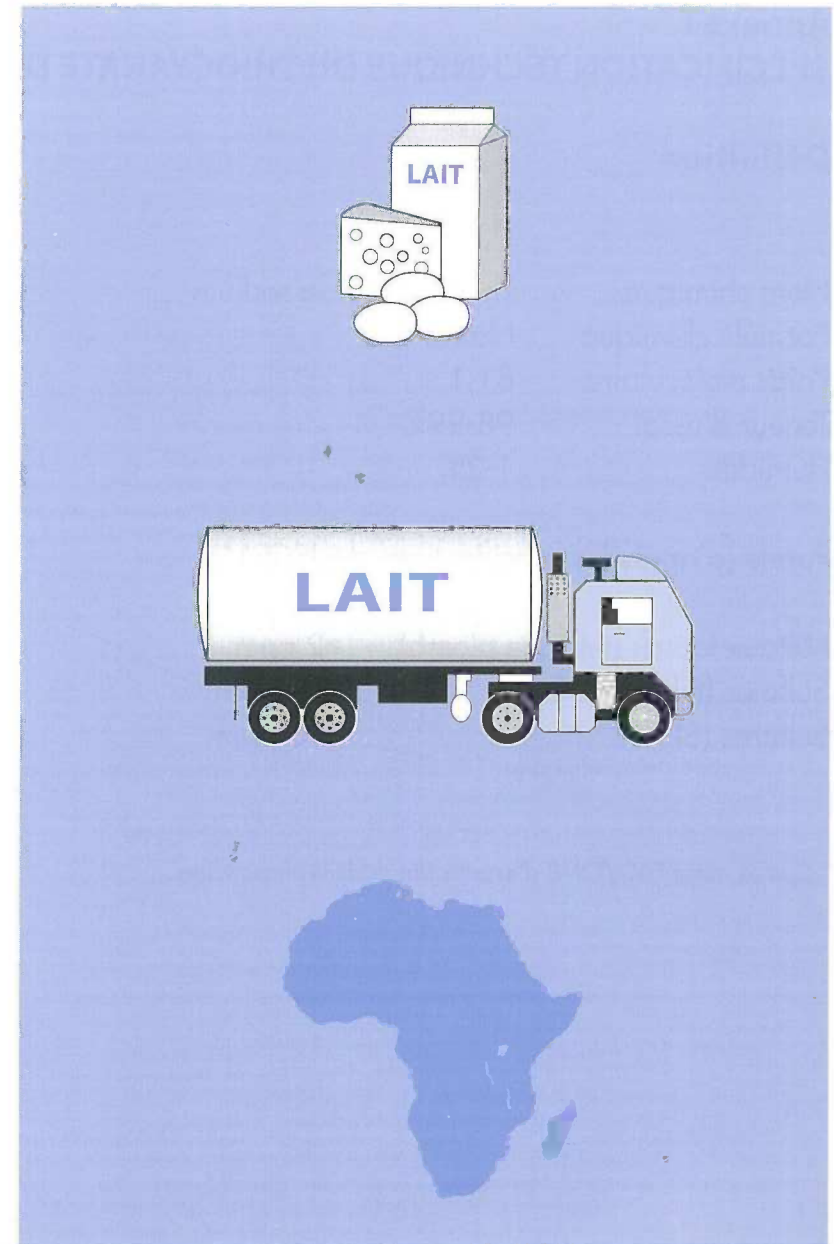
CONCLUSION

Conservation du lait par l'activation de la lactoperoxydase: avantages

Meilleure qualité bactérienne et chimique du lait livré = meilleure qualité des produits laitiers.

Ramassage plus économique du lait.

La production de lait est possible dans des zones où la température ambiante est élevée et où il n'existe pas d'installation de refroidissement.



Annexe I

SPÉCIFICATION TECHNIQUE DU THIOCYANATE DE SODIUM

Définition

Nom chimique	Thiocyanate de sodium
Formule chimique	NaSCN
Poids moléculaire	81,1
Teneur d'essai	98-99%
Humidité	1-2%

Pureté (d'après les spécifications du JECFA*)

Métaux lourds (tels que plomb)	<2 ppm
Sulfates (tels que SO ₄)	<50 ppm
Sulfures (S)	<10 ppm

* Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires.

Annexe II

SPÉCIFICATION TECHNIQUE DU PERCARBONATE DE SODIUM

Définition

Nom chimique	Percarbonate de sodium*
Formule chimique	$2\text{Na}_2\text{CO}_3\text{H}_2\text{O}_2$
Poids moléculaire	314,0
Teneur d'essai	85%

Le percarbonate de sodium disponible dans le commerce, et dont l'utilisation est recommandée, répond à la spécification suivante:

Peroxyhydrate carbonate de sodium	>85%
Métaux lourds (tels que plomb)	<10 ppm
Arsenic (sous forme As)	<3 ppm

*Pour savoir où se procurer du percarbonate de sodium dans le commerce, veuillez-vous adresser au Secrétariat général de la FIL, 41 Square Vergote, B-1040 Bruxelles (Belgique).

Annexe III

ANALYSE DU THIOCYANATE DANS LE LAIT

Principe

Le thiocyanate peut être détecté dans le lait, après déprotéinisation, au moyen d'acide trichloracétique (ATC), en tant que complexe ferrique, en mesurant l'absorbance à 460 nm. Le niveau minimum de détection que permet d'atteindre cette méthode est de 1 à 2 ppm de SCN.

Solutions réactives

1. Acide trichloracétique à 20% (p/v): on dissout 20 g d'ATC dans 100 ml d'eau distillée, et on filtre.
2. Réactif au nitrate ferrique: on dissout 16,0 g $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ dans 50 ml 2 M HNO_3 * et on dilue ensuite avec de l'eau distillée jusqu'à 100 ml. La solution doit être conservée dans l'obscurité et au frais.
3. Détermination: on mélange 4,0 ml de lait avec 2,0 ml de solution d'ATC à 20%. Cet ensemble est bien mélangé, et on le laisse ensuite reposer pendant 30 minutes au moins. On le filtre ensuite au moyen d'un papier filtre convenable (Whatman N° 40).

* On obtient 2M HNO_3 en diluant 138,5 ml de HNO_3 à 65% jusqu'à 1 000 ml avec de l'eau distillée.

On mélange alors 1,5 ml du filtrat clair avec 1,5 ml du réactif au nitrate ferrique, et on mesure l'absorbance à 460 nm. Pour l'essai à blanc, on utilise un mélange de 1,5 ml de solution de nitrate ferrique et de 1,5 ml d'eau. Il y a lieu d'effectuer la mesure dans les 10 minutes qui suivent l'addition de la solution de nitrate ferrique, car le complexe coloré ne demeure pas stable longtemps. On détermine ensuite la concentration du thiocyanate par comparaison avec des solutions étalons dont le taux de concentration du thiocyanate est connu, par exemple 10, 15, 20 et 30 mg/ml de thiocyanate.

NOTES

NOTES

Lined area for notes on the left side of the page.

Lined area for notes on the right side of the page.

Secrétariat du Programme mondial de la lactoperoxydase

Secrétaire: M. J.C. Lambert, Fonctionnaire principal,
Service de la production animale, FAO, Rome

Assistant du Secrétaire: M. R. N'Gatta, Consultant pour les
questions laitières, Division de la production animale, FAO, Rome

Tél.: (+39) 06 5705 4701/06 5705 3003

Télécopie: (+39) 06 5705 5749

Mél.: JeanClaude.Lambert@fao.org/Regis.NGatta@fao.org

**Le présent manuel a été préparé comme référence pratique et document de formation
pour le Programme mondial de lactoperoxydase parrainé par la Suède.**

**Ce programme, qui a été élaboré par la FAO, la Fédération internationale de laiterie,
l'Organisation mondiale de la santé et l'Université d'agronomie d'Uppsala (Suède), sera appliqué
dans 80 pays. Ce programme comprend des démonstrations pratiques du système de
la lactoperoxydase sur le terrain en collaboration avec des centres nationaux et régionaux
sélectionnés et des instituts de recherche laitière.**

ISBN 92-5-204254-7



M-26

X0496F/1/9.99/2500