

---

# Pratiques alimentaires innovantes :

## Utilisation du Kéfir en multi - filière

---

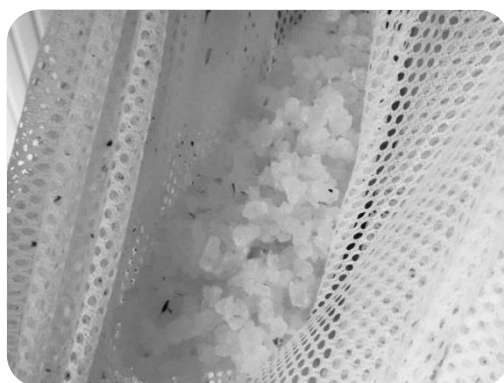
Léa GABRYSIK  
M1 Agrosociences 2017-2018

---



Département professionnel  
**Agrosociences**

**UT** université  
de **TOURS**





## Résumé

Le kéfir est un mélange de microorganismes à effet probiotique. D'après les normes CODEX, une solution de kéfir est composée d'au minimum  $1.10^7$  (UFC<sup>1</sup>/ml) microorganismes totaux et d'au minimum  $1.10^4$  (UFC/ml) levures. On retrouve dans le kéfir un grand nombre de bactéries lactiques. Ces bactéries sont naturellement présentes dans le tube digestif des animaux. C'est donc pourensemencer précocément le tube digestif des jeunes animaux que le kéfir est utilisé en élevage. Il permettrait de limiter le développement de bactéries pathogènes et donc l'utilisation de traitements antibiotiques.

Durant 2 mois, j'ai réalisé 23 enquêtes de pratiques et 28 prélèvements de kéfir afin de faire un lien entre les pratiques d'utilisation du kéfir par les éleveurs et la composition des solutions en termes de bactéries lactiques, levures, moisissures et microorganismes totaux. En parallèle de cette mission, j'ai mis en place un kéfir sur mon lieu de stage et prélevé plusieurs échantillons afin d'évaluer la cinétique de son évolution à différentes périodes : mise en place, repos et distribution.

Les premiers résultats de cette étude montrent que les pratiques liées à l'entretien du kéfir ont un réel impact sur la qualité des kéfirs. Ainsi, on observe que les kéfirs sur support lait sont significativement plus riches en bactéries lactiques que les kéfirs sur support eau sucrée (que cette eau soit chlorée ou non). En termes de recette, les kéfirs nourris avec du lait sont significativement plus riches que les kéfirs nourris avec du sucre. D'autres pratiques (maïs concassé, mélange eau et lait ou kéfirs commerciaux) se placent en position intermédiaire. Les autres caractéristiques du kéfir (type de kéfir, provenance du kéfir ou âge du kéfir) ne montrent pas de différences significatives dans notre échantillon.

La cinétique de notre kéfir a montré une chute brutale des microorganismes totaux au bout d'une semaine. Deux hypothèses sont avancées pour l'expliquer.

Ces résultats préliminaires donnent déjà les premières pistes de travail. Ils seront complétés au cours du projet qui se poursuit encore pendant 3 ans.

---

<sup>1</sup> Unité Formant Colonies

## Remerciements

Dans un premier temps, je tiens à remercier l'équipe pédagogique de l'Université François Rabelais et les intervenants professionnels responsables de la formation Master 1 Agrosciences parcours Productions Animales, pour avoir assuré la partie théorique de celle-ci.

Je remercie également Monsieur Eric DARROUZET pour l'aide et les conseils concernant les missions évoquées dans ce rapport, qu'il m'a apportés lors des différents suivis.

Je tiens à remercier tout particulièrement et à témoigner toute ma reconnaissance aux personnes suivantes, pour l'expérience enrichissante et pleine d'intérêt qu'elles m'ont permis de vivre durant ces deux mois au sein de la Chambre d'Agriculture des Pays de la Loire :

Madame Florence MAUPERTUIS, chargée de mission en production porcine à la Chambre d'Agriculture des Pays de Loire, ma tutrice, pour m'avoir intégrée rapidement au sein de l'entreprise et m'avoir accordé toute sa confiance ; pour le temps qu'elle m'a consacré tout au long de cette période, sachant répondre à toutes mes interrogations ; sans oublier sa participation au cheminement de ce rapport.

Madame Aude DUBOIS et messieurs Olivier DENIS, Arnaud DESBOIS, Michel VIOT, Grégory GUILOISEAU, René GUILLET ainsi que l'ensemble du personnel des Trinottières pour leur accueil sympathique et leur coopération professionnelle tout au long de ces deux mois.

Je souhaite également remercier les techniciens de la Chambre d'Agriculture, de la CAVAC, de Terrena et le vétérinaire Gilles GROSMOND pour m'avoir donné leurs contacts d'éleveurs utilisateurs de kéfir, et pour leurs conseils concernant l'élaboration du questionnaire.

Enfin, je remercie les éleveurs que j'ai enquêtés pour leur accueil et leur intérêt porté à l'étude menée lors de mon stage.

## Table des matières

I.	Présentation de l'entreprise .....	2
II.	Contexte .....	2
a.	Composition et caractéristiques du kéfir .....	4
b.	Utilisation du kéfir en élevage.....	5
c.	Législation.....	7
III.	Dispositif expérimental .....	8
a.	Objectifs .....	8
b.	Matériels et méthodes.....	9
❖	État des lieux des pratiques liées au kéfir.....	9
❖	Appréciation de la qualité des kéfirs .....	10
❖	Cinétique de l'évolution d'un kéfir .....	10
IV.	Résultats et discussion .....	11
❖	Effet des pratiques d'élevage sur la qualité des kéfirs .....	11
❖	Cinétique de l'évolution d'un kéfir .....	17

## Tables des illustrations

Tableau 1 : Comparaison de la composition des kéfirs de fruit et de lait ( <i>MORIN, 2017</i> ) .....	4
Tableau 2 : Description du kéfir ( <i>CODEX STAN 243-2003, 2010</i> ).....	7
Tableau 3 : Composition du kéfir ( <i>CODEX STAN 243-2003, 2010</i> ).....	7
Tableau 4 : Récapitulatif des enquêtes et prélèvements de kéfir en élevage réalisés lors de ma période de stage.....	9
Tableau 5 : Valeurs moyennes de l'échantillon .....	12
Tableau 6 : Impact du support sur la qualité de la solution de kéfir .....	13
Tableau 7 : Impact de la recette sur la qualité de la solution de kéfir.....	14
Tableau 8 : Effet du type de kéfir sur la qualité de la solution de kéfir .....	14
Tableau 9 : Comparaison des différents germes et solutions de kéfir achetés par les éleveurs enquêtés ( <i>YALACTA.COM, COMPTOIRDESPLANTES.FR, SOLU'NATURE.ORG</i> ).....	15
Tableau 10 : Impact de la provenance du kéfir sur la qualité de la solution de kéfir.....	15
Tableau 11 : Impact de l'âge du kéfir sur la qualité de la solution de kéfir .....	16
Figure 1 : Schéma d'ensemble du projet "santé animale" et différents axes d'action ( <i>MORIN, 2017</i> ).....	3
Figure 2 : Schéma des objectifs du projet « kéfir » ( <i>MORIN, 2017</i> ).....	8
Figure 3 : Missions à réaliser lors de mon stage dans l'ordre chronologique .....	8
Figure 4 : Evolution des germes dans la solution de kéfir en période de mise en place.....	17
Figure 5 : Evolution du pH de la solution de kéfir en période de mise en place .....	18
Photo 1 : Solution de kéfir lait.....	4
Photo 2 : Flacon d'échantillonnage vide .....	10
Photo 3 : Installation du test cinétique kéfir.....	10
Photo 4 : Mesure de pH .....	11
Photo 5 : Evolution de la couleur du kéfir en période de mise en place .....	19

## Introduction

La solution de kéfir est une boisson millénaire dont les origines sont mal connues. Elle serait issue des peuples nomades qui transportaient leur lait dans des gourdes faites en peau. Les fermentations ayant lieu dans ces gourdes seraient à l'origine du kéfir. Qu'il soit de fruit ou de lait, le kéfir est connu pour ses effets bénéfiques sur la flore intestinale. On lui prête également d'autres vertus, notamment pour le système immunitaire (*MERDIGNAC, 2018*).

C'est dans un contexte de démédecation des élevages que le kéfir intéresse les filières animales. En effet, chez les jeunes, les défenses immunitaires reposent essentiellement sur l'intégrité de la barrière intestinale. Si la flore bactérienne du tube digestif est contaminée par un grand nombre de bactéries pathogènes, des pathologies digestives peuvent apparaître telles que les diarrhées colibacillaires, cryptosporidioses...

Pour prévenir ces pathologies digestives, de plus en plus d'éleveurs ont recours à des méthodes alternatives aux antibiotiques, comme l'utilisation de probiotiques. Ce sont des microorganismes vivants dont les mécanismes d'actions sont encore peu connus, mais qui pourraient influencer l'immunité intestinale. Le kéfir est composé d'une trentaine de germes à effets probiotiques. Il est donc parfois utilisé en élevage dans le but de coloniser le tube digestif des animaux à la place des bactéries pathogènes. Cependant, les pratiques liées au kéfir en élevage sont diverses et peu maîtrisées car aucun document informatif sur l'entretien et l'utilisation du kéfir n'existe pour les animaux d'élevage.

Pour recenser les différentes pratiques existantes et évaluer l'impact de chacune d'elles sur la qualité du kéfir, deux études ont été mises en place :

- Etude 1 : état des lieux de la qualité des solutions de kéfir en élevage en fonction des pratiques des éleveurs.
- Etude 2 : cinétique d'évolution d'un kéfir pour savoir comment sa qualité évolue à différentes périodes : mise en place, repos et distribution.

Ces deux études permettront de mesurer l'étendue de la variabilité des pratiques et de la qualité des kéfirs en élevage, dans l'objectif d'élaborer des recommandations pour l'utilisation du kéfir dans différentes filières animales.

## I. Présentation de l'entreprise

J'ai réalisé mon stage à la Chambre d'Agriculture des Pays De la Loire, sous la tutelle de Florence MAUPERTUIS, chargée de mission en production porcine.

La région des Pays de la Loire est une grande terre de tradition agricole, réputée dans de très nombreux domaines tels que l'élevage, les cultures spécialisées, mais aussi les grandes cultures, la production de semences... Les agriculteurs en font la 2e région agricole de France.

La Chambre régionale d'agriculture sert d'interface entre le secteur agricole et les instances locales, nationales voire européennes. Elle coordonne également les activités de développement, la production de références technico-économiques ...

Mon stage s'est déroulé au sein de la ferme expérimentale porcine des Trinottières (49). Créée en 1994, elle constitue un outil d'étude des techniques d'élevage et possède des aménagements et des équipements spécifiques tels que :

- Un élevage conventionnel de 120 truies naisseur engraisseur, avec un engraissement sur paille (25% des porcs) et un engraissement en bâtiment basse consommation d'énergie (75% des porcs).
- Un élevage naisseur plein air de 50 truies en agriculture biologique.
- Un atelier de Fabrication des Aliments à la Ferme (FAF).

Cette diversité d'équipements permet de réaliser de nombreux essais pour répondre aux problématiques de la filière porcine ligérienne. En effet, les thématiques d'actualité comme l'alimentation à tous les stades de la production, la santé et les alternatives aux antibiotiques, le logement des animaux, les économies d'énergie/d'eau, l'élevage porcin biologique... peuvent être étudiées sur le site.

## II. Contexte

Dans un contexte où la démédiation en élevage est au cœur des débats, les agriculteurs expriment le besoin de faire évoluer leurs pratiques sanitaires. En effet, suite au premier plan Éco Anti Bio qui visait à réduire de 25% les antibiotiques à usages vétérinaires (*alim' agri*, 2016), beaucoup de professionnels de la filière agricole se sont tournés vers des méthodes alternatives (huiles essentielles, probiotiques...) pour la gestion du sanitaire.



Bien que des formations soient proposées par des organismes de développement pour permettre aux agriculteurs d'acquérir des connaissances et savoir-faire sur ces méthodes, il existe encore peu de moyens d'évaluer, d'analyser et de prendre du recul sur ces pratiques.

La diminution d'utilisation d'antibiotiques critiques à but curatif ne consiste pas uniquement à remplacer ces antibiotiques par d'autres. En effet, de multiples leviers systémiques et préventifs doivent être activés. Ces leviers consistent à maîtriser la conduite d'élevage, l'alimentation et l'environnement des porcs pour assurer leur équilibre physiologique et éviter ainsi l'apparition de maladies.

C'est pour faire face à ces enjeux qu'un collectif d'acteurs du bassin de la Loire a proposé un projet d'actions en réponse à l'appel à projet ouvert par le Conseil Régional sous le titre "Innover en santé animale : une opportunité pour concevoir des systèmes agricoles multi-performants". Dans ce projet, trois axes de travail seront abordés (Figure 1).



Figure 1 : Schéma d'ensemble du projet "santé animale" et différents axes d'action (MORIN, 2017)

Il existe de multiples pratiques alimentaires innovantes permettant de mieux gérer l'aspect sanitaire du troupeau. Cependant, mon stage de deux mois est centré sur l'étude de l'utilisation de kéfir en multi-filière.

## a. Composition et caractéristiques du kéfir

Le kéfir est un amas de bactéries et de levures vivant en symbiose, disponible sous forme de grain (Photo 1). On peut dénombrer dans un grain de kéfir une trentaine de bactéries et levures différentes. Ce chiffre peut varier selon la provenance du kéfir (fruit, lait...) et l'entretien que lui réservent ses utilisateurs (réensemencement, apport de nutriments, stockage...). Le kéfir de lait est un mélange de protéines de lait fermenté et de bactéries (MAUPERTUIS, 2013). Sa composition diffère du kéfir de fruit (Tableau 1).

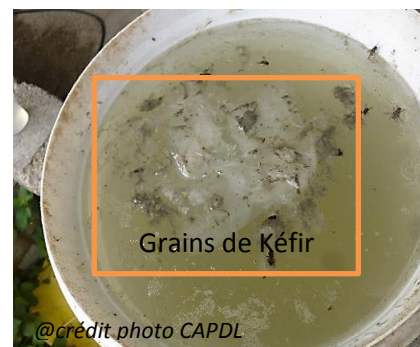


Photo 1 : Solution de kéfir lait

Tableau 1 : Comparaison de la composition des kéfirs de fruit et de lait (MORIN, 2017)

	Kéfir de fruit	Kéfir de lait
<b>Composition</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus</i></li> <li>• <i>Lactococcus lactis</i></li> <li>• <i>Saccharomyces cerevisiae</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus</i></li> <li>• <i>Lactobacillus casei</i></li> <li>• <i>Lactococcus lactis</i></li> <li>• <i>Lactococcus lactis biovar. diacetylactis</i></li> <li>• <i>Leuconostoc citreum</i></li> <li>• <i>Saccharomyces kefir</i></li> </ul>

La composition du kéfir varie selon son origine, la qualité du lait/de l'eau utilisé pour l'entretenir, les méthodes de fabrication et le stade de fermentation. Ainsi, la composition du kéfir évolue constamment au cours du temps. En début de fermentation, on retrouve d'avantage de streptocoques lactiques mésophiles qui produisent de l'acide lactique. Ensuite, les lactobacilles prennent le dessus. Ils font augmenter l'acidité de la solution ce qui entraîne une diminution des streptocoques. Enfin, les levures et les moisissures, qui représentent 5 à 10% de la population microbienne totale, se développent plus tardivement par rapport aux bactéries lactiques.

Sur un grain de kéfir, on retrouve d'avantage de bactéries sur la couche extérieure tandis que les levures prédominent au centre de celui-ci. A l'intérieur du grain, les lactobacilles et les levures sont enrobés dans une matière gluante de polysaccharides microbiens, probablement produite par les lactobacilles du centre du grain (ZOURARI, 1998).

En élevage, le kéfir le plus utilisé est le kéfir de lait. En effet, sa composition en bactéries se rapproche de celles naturellement présentes dans le tube digestif des animaux. Les lactobacilles sont des bactéries lactiques à gram positif, de la famille des Lactobacillaceae.

Ces bactéries sont habituellement présentes dans l'intestin grêle et font partie des bactéries sous dominantes ( $10^6 > N > 10^8$  UFC/g) du colon. Les lactobacilles jouent un rôle dans la digestion et dans la nutrition des animaux. Par exemple, en l'absence de ces bactéries bénéfiques, le transit intestinal est ralenti. De plus, elles dégradent certains nutriments, ce qui les rend disponibles pour l'hôte qui n'a pas toujours la capacité de les dégrader (BOULIOUX, 2014).

## b. Utilisation du kéfir en élevage

Contrairement à d'autres moyens de prévention ou de gestion du sanitaire tels que le lavage et la désinfection des salles, le traitement de l'eau de boisson... ; le kéfir n'est pas utilisé dans l'objectif d'éliminer les agents pathogènes potentiels. En effet, il est utilisé dans le but d'empêcher le développement d'agents pathogènes en occupant les milieux. Ce raisonnement est applicable pour coloniser le tube digestif des jeunes animaux, mais également pour coloniser l'environnement / les espaces de vie de ceux-ci (MAUPERTUIS *et al*, 2013).

Chez les monogastriques, et plus particulièrement chez les jeunes, les défenses immunitaires reposent sur l'intégrité de la barrière intestinale. Il s'agit de l'immunité de barrière. Cette intégrité dépend de l'équilibre de la flore digestive et des bactéries qui composent le microbiote intestinal. Si la flore digestive est perturbée par la prolifération de bactéries pathogènes, des pathologies de types diarrhées, œdèmes colibacillaires... peuvent apparaître. Dans ces cas, les éleveurs ont souvent recours à des traitements antibiotiques. Pour prévenir ces pathologies digestives récurrentes dans certains élevages, les éleveurs peuvent disposer de prescriptions vétérinaires pour utiliser des traitements antibiotiques en préventif. Par exemple en élevage porcin, certains éleveurs administrent une dose de Baycox<sup>®</sup>, un anticoccidien, à tous les porcelets lors des soins, afin d'éviter les diarrhées à coccidies en maternité. Ces traitements préventifs et curatifs sont coûteux et donnent une mauvaise image de la filière aux consommateurs.

De plus, les éleveurs sont soucieux de diminuer voire d'arrêter les traitements antibiotiques de leur troupeau pour éviter les phénomènes d'antibiorésistance. Pour supprimer ces traitements antibiotiques prescrits par les vétérinaires, les éleveurs mettent en place des protocoles de biosécurité et de bonnes pratiques d'hygiène dans leur élevage.

Cependant, ces initiatives ne suffisent pas toujours à régler les problèmes sanitaires déjà présents. Afin de réduire les troubles digestifs des jeunes animaux, une solution pourrait être d'agir de façon précoce en équilibrant et orientant leur flore digestive par l'apport de germes probiotiques.

Ainsi, il serait envisageable d'ensemencer avec des bactéries lactiques « favorables » l'environnement (cases, litières, tapis...) et/ou l'aliment des nouveaux nés. En 2012, une étude menée par la chambre d'agriculture avait montré l'impact favorable de l'apport de kéfir sous la mère sur le démarrage de la consommation d'aliment solide par les porcelets (*MAUPERTUIS, 2013*).

Chez les ruminants (bovins, ovins et caprins), la bonne santé des animaux dépend principalement de la qualité du fourrage qui leur est distribué. En élevage bovin, l'ensilage est fréquemment utilisé. Cette technique permet de conserver les fourrages pour pallier le déficit hivernal de façon fiable et économique. Cependant, la qualité de l'ensilage fini dépend du respect de la méthodologie mise en œuvre. En effet, l'ensilage repose sur un processus fermentaire complexe qui doit conduire à un produit sain et avec des valeurs nutritionnelles proches du fourrage brut. Si la méthodologie de fabrication n'est pas respectée, les fermentations peuvent conduire à un produit de moindre valeur nutritive ou à un produit vecteur de risques sanitaires toxiques ou infectieux. La bonne conservation par ensilage dépend essentiellement des bactéries lactiques, qui produisent de l'acide lactique à partir des sucres solubles. L'acidification du milieu par l'acide lactique va bloquer le développement d'autres espèces non bénéfiques voire pathogènes. Cependant, les bactéries lactiques sont naturellement peu présentes dans les fourrages. Elles se développent en milieu anaérobie, à des températures allant de 10 à 40°C et à un pH<6 (*PARAGON, 2004*). C'est pour favoriser le développement de ces bactéries que l'on souhaite acidifier et mettre en anaérobie le plus rapidement possible un silo d'ensilage. Le kéfir, composé de bactéries lactiques, pourrait être un allier précieux pour garantir la qualité des fourrages conservés. En l'insérant comme conservateur naturel au moment de la récolte, cela permettrait d'avoir la présence de bactéries bénéfiques à la conservation dès la mise en silo et d'éviter les mauvaises fermentations.

En résumé, l'utilisation du kéfir pourrait permettre de prévenir certaines pathologies digestives, et de diminuer l'utilisation d'antibiotiques en élevage. Cependant, cette méthode est encore peu développée et sa mise en place soulève de nombreuses questions relevant de différentes problématiques. Peu de techniciens possèdent suffisamment d'informations pour aider les éleveurs à mettre en place la distribution de kéfir dans leur élevage, qu'il s'agisse des modes de distribution ou encore de l'évaluation de la qualité des kéfirs. De plus, les effets du kéfir sur la santé des animaux ne sont pas démontrés objectivement et se basent principalement sur des retours d'expériences personnelles.

## c. Législation

Le kéfir de lait répond à des normes CODEX pour les laits fermentés. Dans le CODEX STAN 243-2003, le kéfir est un lait fermenté caractérisé par un/des levain(s) spécifique(s) utilisé(s) pour la fermentation (Tableau 2).

Tableau 2 : Description du kéfir (CODEX STAN 243-2003, 2010).

<b>Kéfir :</b>	Levain préparé à partir de grains de kéfir, <i>Lactobacillus kefir</i> , espèces des genres <i>Leuconostoc</i> , <i>Lactococcus</i> et <i>Acetobacter</i> proliférant dans une relation spécifique étroite. Les grains de kéfir constituent à la fois des levures de fermentation au lactose ( <i>Kluyveromyces marxianus</i> ) et des levures sans fermentation au lactose ( <i>Saccharomyces unisporus</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> et <i>Saccharomyces exiguus</i> ).
----------------	--

La qualité et la composition du kéfir dépendent de multiples facteurs tels que les matières premières, les ingrédients, et les caractéristiques de fabrication. Les matières premières utilisées peuvent être du lait et/ou produits dérivés du lait et de l'eau potable. Les ingrédients utilisés doivent être inoffensifs et ajoutés à des quantités fonctionnellement nécessaires en conformité avec les bonnes pratiques de fabrication.

La composition du kéfir doit être conforme à des critères microbiologiques (Tableau 3). Celle-ci doit être vérifiée au moyen de tests analytiques effectués à la Date de Durabilité Minimale (DDM<sup>2</sup>) sur un produit stocké dans les conditions spécifiées sur l'étiquette.

Tableau 3 : Composition du kéfir (CODEX STAN 243-2003, 2010)

	Kéfir
Protéine du lait (% m/m)	Min. 2,7%
Matière grasse du lait (% m/m)	< 10%
Acidité titrable, exprimée en % d'acide lactique (% m/m)	Min. 0,6%
Somme des microorganismes constituant le levain (UFC/g, au total)	Min. 10 <sup>7</sup>
Levures (UFC/g)	Min. 10 <sup>4</sup>

En élevage, le Kéfir est utilisé comme aliment complémentaire. Il s'agit d'un mélange de prébiotiques (lactose et / ou saccharose), de probiotiques (bactéries lactiques, levures...) et de postbiotiques (acide lactique et autres substances sécrétées par les bactéries). Il fait partie de la catégorie des aliments traditionnels fermentés et n'est pas revendiqué comme produit ayant une action thérapeutique. Les éleveurs peuvent donc fabriquer et distribuer du kéfir à leurs animaux sans contre-indications (GROSMOND, 2018, communication personnelle).

<sup>2</sup> La DDM n'a pas le caractère impératif de la DLC. Une fois la date passée, la denrée peut avoir perdu tout ou partie de ses qualités spécifiques, sans pour autant présenter un risque pour le consommateur (DGCCRF, 2017).

Pour contrôler la qualité de leur Kéfir, les éleveurs peuvent faire des analyses de composition en laboratoire pour une cinquantaine d'euros par échantillon. Cependant, les éleveurs sont peu informés de la possibilité de faire ces analyses et très peu connaissent donc la qualité de leur kéfir.

### III. Dispositif expérimental

#### a. Objectifs

Dans le cadre du projet Kéfir, différents objectifs sont visés pour répondre aux problématiques rencontrées sur le terrain par les éleveurs et les autres professionnels de la filière (Figure 2).

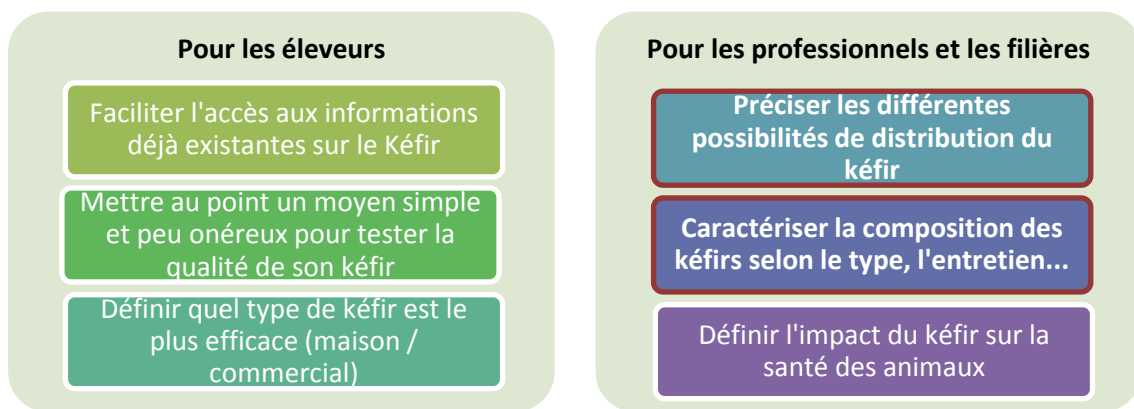


Figure 2 : Schéma des objectifs du projet « kéfir » (MORIN, 2017)

Lors de mon stage, mes missions (Figure 3) consistaient à répondre aux objectifs « préciser les différentes possibilités de distribution du kéfir » et « caractériser la composition des kéfirs selon le type, l'entretien... » (Figure 2).

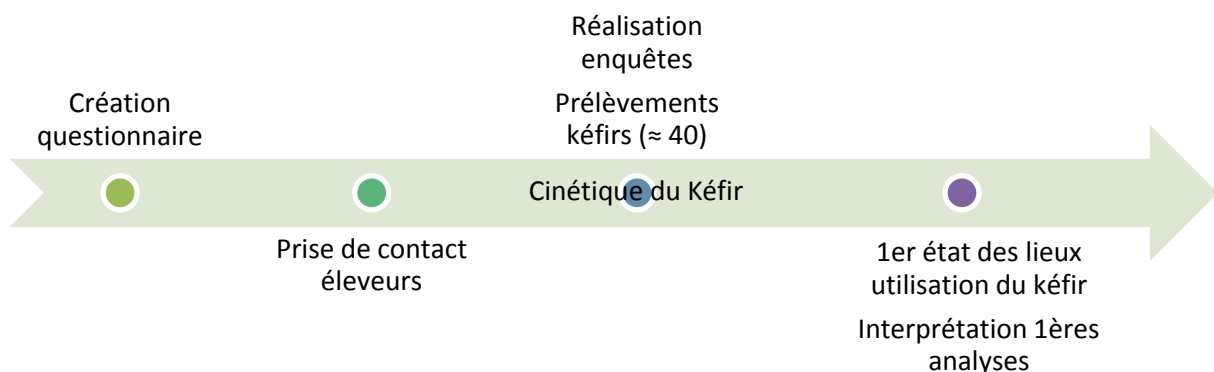


Figure 3 : Missions à réaliser lors de mon stage dans l'ordre chronologique

Dans un premier temps, j'ai réalisé une enquête (Annexe 1) auprès d'une vingtaine d'éleveurs utilisateurs de kéfir, sur les pratiques liées à la distribution de kéfir en multi filière (porcs et bovins).

L'enquête avait pour objectif principal de faire un état des lieux de l'utilisation du kéfir en élevage (moyens de distribution, provenances, usages...). Les moyens de distribution et d'utilisation du kéfir étant diversifiés et encore peu connus, nous avons fait le choix d'un questionnaire semi directif afin de laisser une grande liberté de réponse aux éleveurs. L'échantillonnage a été fait à partir de listes d'éleveurs utilisateurs de kéfir et/ou ayant suivi une formation sur le kéfir via la chambre d'agriculture. Les éleveurs ayant arrêté l'utilisation ont été interrogés sur les causes de l'arrêt et ceux se projetant dans l'utilisation sur leurs motivations.

En parallèle, le kéfir des éleveurs enquêtés a été prélevé afin d'établir le profil bactériologique de chaque kéfir (proportions de levures et de bactéries lactiques). Ces mesures ont été réalisées afin d'essayer de faire un lien entre les pratiques des éleveurs et la qualité de leur kéfir.

Enfin, un kéfir a été créé et élevé sur le site des Trinottières, dans les mêmes conditions que le kéfir produit sur la ferme (recette de préparation, stockage, entretien en périodes de repos et de distribution...). La cinétique de développement de ce kéfir a été suivie en termes de pH, de composition en bactéries... pour apprécier son évolution dans le temps au cours de différentes périodes (préparation, repos, distribution).

## b. Matériels et méthodes

### ❖ État des lieux des pratiques liées au kéfir

Pour réaliser l'état des lieux des pratiques liées au kéfir, 16 éleveurs de porcs, 4 éleveurs de bovins et 3 éleveurs de porcs et bovins ont été enquêtés (Tableau 4). Lors de l'enquête, des questions ouvertes ont été posées aux utilisateurs sur la mise en place, la préparation, l'entretien, les moyens et périodes de distribution, les quantités distribuées et l'appréciation de l'utilisation du kéfir. 2 à 3 échantillons ont pu être réalisés chez les éleveurs disposant de plusieurs cuves de Kéfir (par exemple : Kéfir jours pairs / jours impairs, ou encore Kéfir lait/sucre...).

Tableau 4 : Récapitulatif des enquêtes et prélèvements de kéfir en élevage réalisés lors de ma période de stage

Catégorie d'élevage	Utilisateur actuel	Anciens utilisateurs	Futurs utilisateurs	Total éleveurs enquêtés	Nombre d'échantillon de kéfir
<b>Porcs</b>	11	2	3	<b>16</b>	18
<b>Bovins</b>	3	1	0	<b>4</b>	7
<b>Porcs et bovins</b>	3	0	0	<b>3</b>	3
<b>Total</b>	<b>17</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>23</b>	<b>28</b>

Dans la suite de l'étude, d'autres éleveurs de bovins et des éleveurs de volailles seront également enquêtés afin d'élargir l'état des lieux des pratiques liées au kéfir dans trois filières animales.

### ❖ Appréciation de la qualité des kéfirs



Photo 2 : Flacon d'échantillonnage vide

Pour apprécier la qualité des kéfirs, des échantillons ont été prélevés chez les éleveurs enquêtés. Lors de mon stage, j'ai effectué le prélèvement de 40 échantillons (28 en élevage et 12 pour la cinétique kéfir) sur 100 prévus pour la totalité de l'étude. Ces échantillons ont été conditionnés dans des flacons stériles de 100ml, fournis par le laboratoire Inovalys (Photo 2). Les prélèvements ont été réalisés dans les mêmes conditions que celles des prélèvements de kéfir pour la distribution en élevage (prélèvement par un pichet puis transvasement, prélèvement direct dans la cuve de stockage, prélèvement par un robinet...). Sur chaque bouchon de flacon, le nom de l'éleveur était inscrit, ainsi qu'un numéro de 1 à X en fonction du nombre d'échantillons prélevés chez un même éleveur.

Les échantillons étaient transportés de l'élevage enquêté au bureau dans une glacière, puis stockés dans un réfrigérateur jusqu'à l'envoi au laboratoire d'analyses. Le laboratoire analysait les solutions de kéfir par série de 10.

Les analyses d'échantillons consistaient à faire un comptage des bactéries lactiques et des levures et/ou moisissures (UFC/ml), dans le but d'observer les proportions de celles-ci dans les kéfirs prélevés. Les résultats étaient transmis sous 10 jours et il fallait compter une quarantaine d'euros par échantillon analysé.

### ❖ Cinétique de l'évolution d'un kéfir

Une nouvelle solution de kéfir a été démarrée afin d'apprécier l'évolution du kéfir lors de sa mise en place, après une période de pause d'une semaine et en période d'utilisation avec des prélèvements toutes les 48h.

Pour cela, un pot de germes de kéfir de lait de 20g au prix d'une vingtaine d'euros a été commandé au comptoir des plantes (Photo 3). 4L de kéfir ont ensuite été préparés dans un seau opaque de 11L à raison de 5g de grains de kéfir et de 40 g de sucre / litre d'eau.

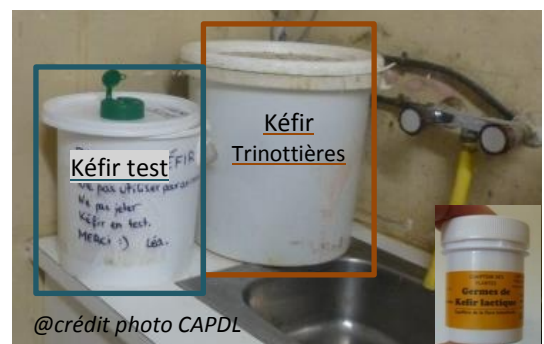


Photo 3 : Installation du test cinétique kéfir

Le seau était placé dans le magasin où est stocké le kéfir habituellement utilisé sur le site des Trinottières (Photo 3).



### 1ère phase : Mise en place du kéfir (2 semaines)

Lors des deux premières semaines, période de mise en place du kéfir, des échantillons de 100ml ont été réalisés tous les deux ou trois jours, soit au total 5 échantillons de 100 ml. Le volume de chaque échantillon n'était pas compensé par de l'eau sucrée, de façon à ne pas diluer la population de germes. A l'issue de ces deux semaines, le volume de solution kéfir disponible était donc de 3,5 litres.

### 2ème phase : Période de repos (1 semaine)

Le premier jour de cette phase, le kéfir a été nourri (160g de sucre) et est entré en phase de repos d'une semaine. Durant cette semaine, aucun échantillon n'était prélevé.

### 3ème phase : Période d'utilisation (1 semaine)

Lors de la semaine suivante, des prélèvements de kéfir, imitant ceux réalisés en élevage pour la distribution du kéfir aux animaux, ont été réalisés. Les prélèvements étaient faits tous les deux ou trois jours à raison de 750 ml par prélèvement (car il ne faut jamais prélever plus de 30% de solution à la fois, sous peine d'appauvrir la solution en microorganismes). Chaque prélèvement de kéfir a été compensé par l'apport de 750 ml d'eau tiède + 30g de sucre.

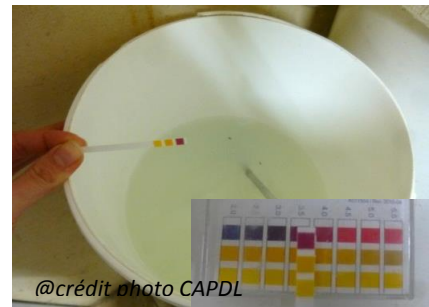


Photo 4 : Mesure de pH

Un « test bandelette de pH » était fait au moment de l'échantillonnage (Photo 4). Lors de la période de distribution, si le kéfir avait un pH > 4, 10ml de vinaigre blanc étaient rajoutés à la solution.

## IV. Résultats et discussion

### ❖ Effet des pratiques d'élevage sur la qualité des kéfirs

Au total, 25 solutions de kéfir ont été analysées. Le tableau ci-dessous présente les valeurs moyennes de l'échantillon (Tableau 5).

Tableau 5 : Valeurs moyennes de l'échantillon

Nombre d'échantillons : 25	Bactéries lactiques (UFC/ml)	Levures (UFC/ml)	Moisissures (UFC/ml)	Microorganismes totaux (UFC/ml)	% bactéries lactiques	% levures	% moisissures
<b>Moyenne</b>	$3,2 \cdot 10^7$	$1,4 \cdot 10^6$	$5,6 \cdot 10^2$	$3,3 \cdot 10^7$	53,8	46,1	0,1
<b>Ecartype</b>	$8,3 \cdot 10^7$	$2,5 \cdot 10^6$	$9,4 \cdot 10^2$	$8,5 \cdot 10^7$	37,2	37,2	0,1
<b>Mini</b>	$5,0 \cdot 10^2$	$3,6 \cdot 10^3$	$1,0 \cdot 10^0$	$5,5 \cdot 10^4$	0,0	0,2	0,0
<b>Maxi</b>	$3,0 \cdot 10^8$	$1,2 \cdot 10^7$	$4,3 \cdot 10^3$	$3,1 \cdot 10^8$	99,8	99,9	0,6

Le nombre de bactéries lactiques, de levures et de microorganismes totaux dans les différentes solutions prélevées est très variable (Tableau 5). Cela n'empêche pas l'échantillon d'être en moyenne conforme aux normes du CODEX STAN 243-2003. Dans une solution de kéfir, les microorganismes totaux doivent être au nombre minimum de  $1 \cdot 10^7$  UFC/ml (ici  $3,3 \cdot 10^7$ ) et les levures de  $1 \cdot 10^4$  UFC/ml (ici  $1,4 \cdot 10^6$ ). Cependant, la proportion de levures dans les solutions de kéfir par rapport aux bactéries lactiques est en moyenne plus élevée que les attentes de la bibliographie (46,1% contre 5 à 12%). Enfin, la proportion de moisissures très faible (0 à 0,6%) permet de confirmer la bonne qualité hygiénique des solutions de kéfir de l'échantillon.

Pour évaluer la qualité des kéfirs, nous nous intéresserons à 5 critères : le nombre de bactéries lactiques, de levures et de microorganismes totaux présents dans la solution (UFC/ml) et la proportion de bactéries lactiques ou de levures (%).

Pour observer l'effet des pratiques d'élevage sur la qualité des kéfirs, cinq facteurs ont été choisis en fonction de l'expérience terrain et de la bibliographie.

Des tests ANOVA et des comparaisons de moyennes et intervalles de confiance à 95% (Annexe 2) sous le logiciel Stat Graphics ont été réalisés pour vérifier l'impact de ces facteurs sur les variables de qualité des kéfirs prélevés.

Pour chacun des tableaux suivants, les valeurs d'une même ligne non suivies par la même lettre diffèrent significativement au seuil  $p < 0,05$ . Quand la valeur de la probabilité pour le test de Fischer (F) est  $< 0,05$ , il y a une différence statistiquement significative entre les moyennes de toutes les variables au niveau de confiance de 95,0%. Les valeurs en italique et entre parenthèses correspondent aux limites inférieures et supérieures de l'intervalle de confiance à 95%.

## Effet support

Le facteur support concerne le solvant utilisé pour faire la solution de kéfir. Quatre modalités ont été retenues pour ce facteur (Tableau 6).

Dans notre échantillon, le principal support utilisé par les éleveurs est l'eau non chlorée (15 solutions sur 25). Cela est cohérent car il est conseillé de ne pas utiliser l'eau chlorée comme support pour ne pas nuire à la flore bactérienne de la solution de kéfir. Chez les éleveurs utilisant l'eau chlorée comme support (8 sur 25), la moitié l'utilise brute, tandis que l'autre tire l'eau la veille pour tenter de neutraliser le chlore actif. En ce qui concerne le support lait, il est essentiellement utilisé chez les éleveurs de bovins.

Le nombre de bactéries lactiques et de microorganismes totaux est significativement plus élevé dans les solutions de kéfir qui disposent d'un support lait (Tableau 6). Pour les trois autres supports, il décroît respectivement de l'eau non chlorée à l'eau chlorée tirée la veille puis à l'eau chlorée. Cependant, l'écart n'est pas significatif entre les 3 supports à base d'eau (Tableau 6).

La proportion de bactéries lactiques paraît plus élevée dans les solutions de kéfir à support lait mais cet écart n'est pas significatif (Tableau 6). Il semble pourtant cohérent car le lait a une flore bactérienne naturellement riche contrairement à l'eau chlorée qui dispose en plus de propriétés virucide, antibactérienne...

Tableau 6 : Impact du support sur la qualité de la solution de kéfir

	Eau chlorée	Eau chlorée tirée la veille	Eau non chlorée	Lait	Probabilité de F
<b>Nombre d'échantillons</b>	4	4	15	2	-
<b>Bactéries lactiques (UFC/ml)</b>	2,5.10 <sup>5</sup> <b>a</b> (-3 <sup>E</sup> 5 ; 8 <sup>E</sup> 5)	3,6.10 <sup>6</sup> <b>a</b> (7 <sup>E</sup> 6 ; 1 <sup>E</sup> 7)	1,2.10 <sup>7</sup> <b>a</b> (-6 <sup>E</sup> 6 ; 3 <sup>E</sup> 7)	3,0.10 <sup>8</sup> <b>b</b> (3 <sup>E</sup> 8 ; 3 <sup>E</sup> 8)	<b>0,0000</b>
<b>Levures (UFC/ml)</b>	1,7.10 <sup>5</sup> <b>a</b> (-1 <sup>E</sup> 5 ; 4 <sup>E</sup> 5)	8,6.10 <sup>4</sup> <b>a</b> (2 <sup>E</sup> 4 ; 1 <sup>E</sup> 5)	1,1.10 <sup>6</sup> <b>a</b> (4 <sup>E</sup> 5 ; 1 <sup>E</sup> 6)	8,2.10 <sup>6</sup> <b>b</b> (-4 <sup>E</sup> 7 ; 5 <sup>E</sup> 7)	<b>0,0000</b>
<b>Microorganismes totaux (UFC/ml)</b>	4,3.10 <sup>5</sup> <b>a</b> (-4 <sup>E</sup> 5 ; 1 <sup>E</sup> 6)	3,7.10 <sup>6</sup> <b>a</b> (-7 <sup>E</sup> 6 ; 1 <sup>E</sup> 7)	1,3.10 <sup>7</sup> <b>a</b> (-5 <sup>E</sup> 6 ; 3 <sup>E</sup> 7)	3,1.10 <sup>8</sup> <b>b</b> (2 <sup>E</sup> 8 ; 3 <sup>E</sup> 8)	<b>0,0000</b>
<b>% Bactéries lactiques</b>	43,2 (6 ; 80)	68,8 (33 ; 104)	46,8 (23 ; 70)	97,4 (81 ; 112)	0,2625
<b>% Levures</b>	56,6 (19 ; 93)	31,1 (-4 ; 66)	53,1 (19 ; 93)	2,6 (-13 ; 18)	0,2625

## Effet recette

Trois modalités ont été prises en compte pour ce facteur : lait, eau sucrée ou autre. La modalité « autre » regroupe différentes pratiques : ajout de maïs concassé, mélange eau sucrée et lait, ou kéfir liquide à diluer. Dans notre échantillon, la majorité des éleveurs de porcs utilisent la recette eau sucrée, tandis que la recette à base de lait est uniquement utilisée par des éleveurs bovins.

Les résultats nous montrent que la recette a un effet significatif sur le nombre de microorganismes totaux et sur le nombre de bactéries lactiques. La recette lait donne la solution la plus riche, suivie par la recette autre, puis eau sucrée (Tableau 7).

En ce qui concerne les levures, la recette lait donne des solutions de kéfir significativement plus riches que les deux autres. Cela est cohérent avec le nombre de microorganismes totaux observé (Tableau 7).

**Tableau 7 : Impact de la recette sur la qualité de la solution de kéfir**

	Eau + sucre	Lait	Autre	Probabilité de F
<b>Nombre d'échantillons</b>	18	2	5	-
<b>Bactéries lactiques (UFC/ml)</b>	2,2.10 <sup>6</sup> <b>a</b> (-9 <sup>E</sup> 4 ; 4 <sup>E</sup> 6)	3,0.10 <sup>8</sup> <b>b</b> (3 <sup>E</sup> 8 ; 3 <sup>E</sup> 8)	3,1.10 <sup>7</sup> <b>c</b> (-3 <sup>E</sup> 7 ; 1 <sup>E</sup> 8)	<b>0,0000</b>
<b>Levures (UFC/ml)</b>	7,0.10 <sup>5</sup> <b>a</b> (6 <sup>E</sup> 4 ; 1 <sup>E</sup> 6)	8,2.10 <sup>6</sup> <b>b</b> (-4 <sup>E</sup> 7 ; 5 <sup>E</sup> 7)	1,1.10 <sup>6</sup> <b>a</b> (7 <sup>E</sup> 5 ; 1 <sup>E</sup> 6)	<b>0,0000</b>
<b>Microorganismes totaux (UFC/ml)</b>	2,9.10 <sup>6</sup> <b>a</b> (2 <sup>E</sup> 5 ; 5 <sup>E</sup> 6)	3,1.10 <sup>8</sup> <b>b</b> (2 <sup>E</sup> 8 ; 3 <sup>E</sup> 8)	3,2.10 <sup>7</sup> <b>c</b> (-3 <sup>E</sup> 7 ; 1 <sup>E</sup> 8)	<b>0,0000</b>
<b>% Bactéries lactiques</b>	46,3 (28 ; 64)	97,4 (81 ; 112)	63,4 (10 ; 115)	0,1626
<b>% Levures</b>	53,6 (35 ; 71)	2,6 (-12 ; 18)	36,5 (-15 ; 88)	0,1633

### Effet type de kéfir

Le facteur type de kéfir concerne l'origine de la souche de kéfir utilisée pour faire la solution : kéfir de lait et/ou kéfir de fruit. Dans notre échantillon, la majorité des éleveurs utilisent du kéfir de lait (Tableau 8), même avec une recette à base d'eau sucrée. En effet, l'objectif des éleveurs est d'obtenir une solution riche en bactéries lactiques pourensemencer le tube digestif des jeunes animaux. Or, ces bactéries sont retrouvées en plus grande quantité dans le kéfir de lait que dans le kéfir de fruit. Les deux types de kéfirs sont aussi bien utilisés pour l'ensemencement du tube digestif des animaux que pour la conservation de l'ensilage chez les éleveurs que nous avons rencontrés. Dans notre échantillon, aucune différence significative n'a été observée (Tableau 8).

**Tableau 8 : Effet du type de kéfir sur la qualité de la solution de kéfir**

	Lait	Fruit	Probabilité de F
<b>Nombre d'échantillons</b>	17	6	-
<b>Bactéries lactiques (UFC/ml)</b>	4,5.10 <sup>7</sup> (-6 <sup>E</sup> 6 ; 9 <sup>E</sup> 7)	2,5.10 <sup>6</sup> (-3 <sup>E</sup> 6 ; 8 <sup>E</sup> 6)	0,5299
<b>Levures (UFC/ml)</b>	1,5.10 <sup>6</sup> (-4 <sup>E</sup> 3 ; 3 <sup>E</sup> 6)	1,3.10 <sup>6</sup> (-7 <sup>E</sup> 5 ; 3 <sup>E</sup> 6)	0,8745
<b>Microorganismes totaux (UFC/ml)</b>	4,7.10 <sup>7</sup> (-6 <sup>E</sup> 6 ; 9 <sup>E</sup> 7)	3,8.10 <sup>6</sup> (-4 <sup>E</sup> 6 ; 1 <sup>E</sup> 7)	0,5393
<b>% Bactéries lactiques</b>	55,0 (34 ; 75)	39,1 (4 ; 73)	0,2915
<b>% Levures</b>	44,9 (24 ; 65)	60,9 (26 ; 95)	0,2918

## Effet provenance kéfir

Le facteur provenance du kéfir décrit sous quelle forme les éleveurs se procurent leur kéfir pour créer leur solution, avec trois modalités possibles : germes, grains ou liquide.

La forme « germes de kéfir » correspond à des bactéries et levures lyophilisées. Elle est souvent trouvée en pharmacie ou aux comptoirs des plantes. La forme « grains de kéfir » est principalement transmise de particuliers à particuliers et la forme « kéfir liquide » correspond aux kéfirs commerciaux prêts à l'emploi. La forme de kéfir la plus répandue dans notre échantillon est la forme de germes (16 solutions sur 25), facile à trouver (pharmacie, magasins bio...), peu coûteuse (6,99€/litre) et cultivable. Tandis que la forme liquide, plus coûteuse (15,6€/litre) et non cultivable est moins répandue (2 solutions sur 25) (Tableau 10).

Tableau 9 : Comparaison des différents germes et solutions de kéfir achetés par les éleveurs enquêtés (YALACTA.COM, COMPTOIRDESPLANTES.FR, SOLU'NATURE.ORG)

	Germes de Kéfir fruit yalacta®	Germes de Kéfir lait yalacta®	Germes de Kéfir lait comptoir des plantes®	Kéfir Défi'Flor®
<b>Composition</b>	<b>Dextrose,</b> Saccharomyces cerevisiae, Lactobacillus paracasei, Lactococcus lactis, Leuconostoc mesenteroïdes	<b>Lactose,</b> Lactobacillus acidophilus, Streptococcus thermophilus, Bifidobacterium, Kluyveromyces marxianus, Lactococcus lactis, Leuconostoc mesenteroïdes	Kéfir de lait en poudre (non détaillé)	<b>Dextrose,</b> <b>Lactose,</b> Maltodextrines, Hydrolysate de levures, Additifs (E301, E4, E5, E6, arôme de vanille biologique)

En termes de composition, les solutions à base de germes et de grains de kéfir semblent similaires (Tableau 9 ; Tableau 10) et globalement plus riches en bactéries lactiques que celles provenant de kéfir liquide. Néanmoins, dans l'échantillon étudié, la différence n'est pas significative (Tableau 10).

Tableau 10 : Impact de la provenance du kéfir sur la qualité de la solution de kéfir

	Germes	Grains	liquide	Probabilité de F
<b>Nombre d'échantillons</b>	16	7	2	-
<b>Bactéries lactiques (UFC/ml)</b>	4,0.10 <sup>7</sup> (-1 <sup>E</sup> 7 ; 9 <sup>E</sup> 7)	2,2.10 <sup>7</sup> (-2 <sup>E</sup> 7 ; 6 <sup>E</sup> 7)	3,8.10 <sup>5</sup> (-4 <sup>E</sup> 6 ; 5 <sup>E</sup> 6)	0,7869
<b>Levures (UFC/ml)</b>	1,5.10 <sup>6</sup> (-1 <sup>E</sup> 5 ; 3 <sup>E</sup> 6)	1,3.10 <sup>6</sup> (-3 <sup>E</sup> 5 ; 2 <sup>E</sup> 6)	1,0.10 <sup>6</sup> (-1 <sup>E</sup> 6 ; 3 <sup>E</sup> 6)	0,9701
<b>Microorganismes totaux</b>	4,1.10 <sup>7</sup> (-1 <sup>E</sup> 7 ; 9 <sup>E</sup> 7)	2,3.10 <sup>7</sup> (-2 <sup>E</sup> 7 ; 6 <sup>E</sup> 7)	1,4.10 <sup>6</sup> (-5 <sup>E</sup> 6 ; 8 <sup>E</sup> 6)	0,7916
<b>% Bactéries lactiques</b>	57,9 (38 ; 77)	54,2 (14 ; 93)	19,8 (-217 ; 256)	0,4270
<b>% Levures</b>	42,0 (22 ; 61)	45,7 (6 ; 85)	80,1 (-156 ; 316)	0,4255

## Effet âge du kéfir

Pour le facteur âge du kéfir, nous avons défini trois tranches en fonction de la valeur médiane de l'échantillon et en se basant sur les conseils d'utilisation du kéfir qui préconisent de renouveler la solution mère tous les deux ans. Les trois modalités de cette variable sont donc les kéfirs d'âge < 24 mois, considérés comme jeunes ; les kéfirs de 24 à 48 mois et ceux d'âge > 48 mois, considérés comme vieux.

On observe dans notre échantillon que les kéfirs les plus jeunes semblent globalement plus riches (Tableau 11). Passée la barre des 24 mois, il y aurait une baisse de la qualité du kéfir probablement due à un épuisement. Cependant, certains éleveurs arrivent à conserver leur kéfir plus de 48 mois, sûrement grâce à une bonne conduite de l'entretien de leur solution.

Les kéfirs les plus vieux semblent moins riches que les jeunes, mais de meilleure qualité que les kéfirs se situant entre 24 et 48 mois d'âge. Cependant, dans notre échantillon, les écarts ne sont pas significatifs (Tableau 11).

Tableau 11 : Impact de l'âge du kéfir sur la qualité de la solution de kéfir

	< 24 mois	24 à 48 mois	> 48 mois	Probabilité de F
<b>Nombre d'échantillons</b>	9	6	8	-
<b>Bactéries lactiques (UFC/ml)</b>	6,8.10 <sup>7</sup> (-3 <sup>E</sup> 7 ; 1 <sup>E</sup> 8)	1,3.10 <sup>6</sup> (-5 <sup>E</sup> 5 ; 3 <sup>E</sup> 6)	2,8.10 <sup>7</sup> (-2 <sup>E</sup> 7 ; 8 <sup>E</sup> 7)	0,4145
<b>Levures (UFC/ml)</b>	2,0.10 <sup>6</sup> (-1 <sup>E</sup> 6 ; 5 <sup>E</sup> 6)	2,5.10 <sup>5</sup> (9 <sup>E</sup> 3 ; 4 <sup>E</sup> 5)	2,0.10 <sup>6</sup> (2 <sup>E</sup> 5 ; 3 <sup>E</sup> 6)	0,4986
<b>Microorganismes totaux</b>	7,0.10 <sup>7</sup> (-3 <sup>E</sup> 7 ; 1 <sup>E</sup> 8)	1,6.10 <sup>6</sup> (-3 <sup>E</sup> 5 ; 3 <sup>E</sup> 6)	3,0.10 <sup>7</sup> (-2 <sup>E</sup> 7 ; 8 <sup>E</sup> 7)	0,4143
<b>% Bactéries lactiques</b>	48,6 (16 ; 81)	63,8 (39 ; 88)	59,6 (12 ; 106)	0,5064
<b>% Levures</b>	51,3 (18 ; 83)	36,0 (11 ; 60)	40,4 (-6 ; 87)	0,5045

Du fait de la faible taille de notre échantillon, de nombreux résultats ressortent non significatifs, notamment lorsque l'une des modalités du facteur étudié repose sur un faible nombre de données. Avec un échantillon plus grand par la suite dans cette étude, certains écarts concernant les facteurs « âge » ou « type de kéfir » par exemple, pourraient devenir significatifs.

Ces premiers résultats nous permettent de tirer la conclusion suivante : la qualité d'une solution de kéfir dépend essentiellement de la façon dont elle est nourrie et entretenue. En effet, seuls les facteurs concernant la recette et le support ont un effet significatif. La provenance, le type, et l'âge ne ressortent pas comme facteurs ayant des impacts significatifs. Ces résultats sont plutôt encourageants car s'ils se confirment sur un plus grand échantillon, ils signifieraient qu'un kéfir bien entretenu serait de bonne qualité, peu importe son âge et son origine.

Cependant, le lait ressortant comme le meilleur substrat pour le kéfir, cela impliquerait pour les éleveurs de porcs de faire des dépenses supplémentaires pour entretenir leur kéfir.

### ❖ Cinétique de l'évolution d'un kéfir

La cinétique de l'évolution d'une solution de kéfir lors de sa mise en place nous a permis d'observer plusieurs paramètres.

#### **Nombre germes dans la solution (UFC/ml) :**

La proportion de moisissures dans la solution varie de 0 à 0,1%, ce qui nous indique une bonne qualité hygiénique de la solution de kéfir.

En revanche, le nombre de bactéries lactiques, très élevé jusqu'à J4 chute brutalement à J7. A contrario, le nombre de levures augmente lentement au cours des deux semaines et devient supérieur au nombre de bactéries lactiques à partir de J9. Ainsi, dès J7, la somme des microorganismes totaux du levain est inférieure à la norme CODEX STAN 243-2003 (Figure 4). Au regard de la norme réglementaire, cette solution n'est donc pas assez riche pour pouvoir être considérée comme du kéfir.

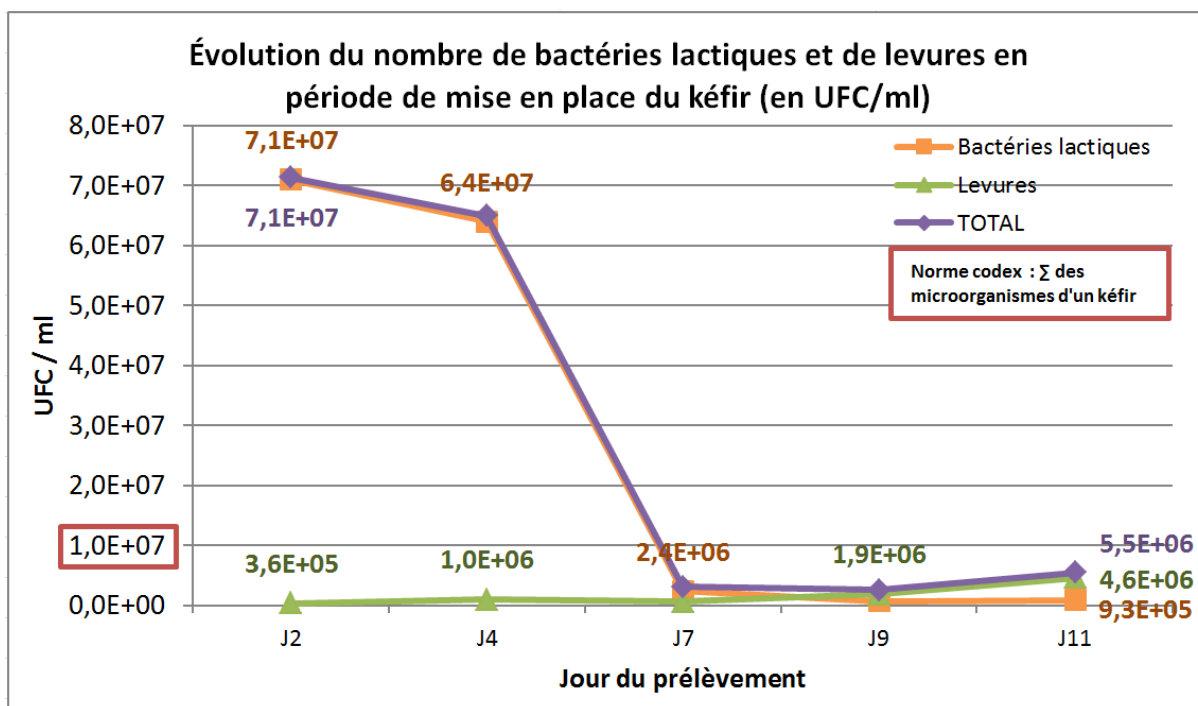


Figure 4 : Evolution des germes dans la solution de kéfir en période de mise en place

La chute brutale du nombre de bactéries lactiques est responsable de la baisse du nombre de microorganismes totaux de la solution et dégrade donc sa qualité. Deux hypothèses ont été émises pour expliquer cette chute : l'utilisation d'eau chlorée, ou le manque de substrat.

En effet, pour réaliser le kéfir dans les conditions habituelles de l'élevage des Trinottières, nous avons utilisé la même eau. Le chlore présent dans l'eau a un effet bactéricide qui pourrait nuire au développement des bactéries de notre solution de kéfir. Dans cette hypothèse, les levures seraient plus résistantes. La deuxième hypothèse est qu'à partir de J7, les bactéries lactiques aient régressé par manque de substrat à leur disposition. En effet, la solution n'a pas été nourrie entre J7 et J14.

Un nouveau test sera réalisé pour confirmer ou infirmer ces hypothèses. Deux solutions de kéfir seront préparées. L'une selon le même protocole mais avec de l'eau minérale, et l'autre avec de l'eau chlorée et ajout d'un repas de sucre, à raison de 40g/l, à J7.

**pH de la solution :**

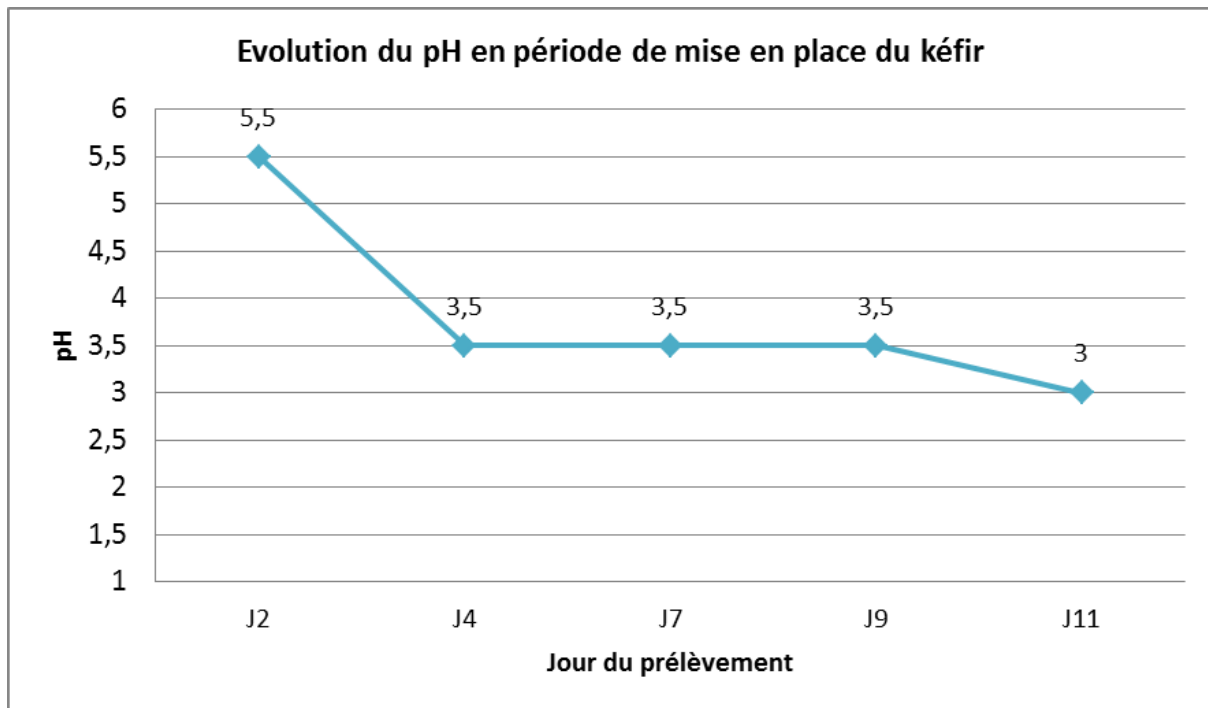


Figure 5 : Evolution du pH de la solution de kéfir en période de mise en place

Pendant la mise en place du kéfir, le pH de la solution baisse fortement (5,5 à 3) (Figure 5). Cela est cohérent avec la bibliographie car les bactéries lactiques du kéfir produisent de l'acide lactique à partir du saccharose, ce qui entraîne une acidification du milieu.

En élevage, un des seuls indicateurs de la qualité du kéfir utilisé est le pH de la solution. Les éleveurs cherchent à avoir une solution à pH proche de 4 à 3,5. Cependant, avec cette expérience, on se rend compte que cet indicateur est insuffisant et ne reflète pas forcément le nombre de bactéries lactiques présentes dans la solution.



## Couleur de la solution :



**Photo 5 : Evolution de la couleur du kéfir en période de mise en place**

Lors de l'entretien de la solution du kéfir au cours des différentes périodes, j'ai pu apprécier les qualités organoleptiques de celle-ci dont la couleur. En effet, bien que l'odeur (de lait à vinaigre) et la texture (de lisse à grumeleux) de la solution aient également évolué dans le temps, la couleur du kéfir, habituellement blanche / translucide, a viré au rouge pourpre (Photo 5). Ce phénomène a déjà été observé dans plusieurs élevages, mais la cause de celui-ci n'est pas connue. L'hypothèse émise est que les conditions de

conservation de la solution favoriseraient le développement de microorganismes responsables de cette couleur. Ces microorganismes pourraient être les mêmes que ceux responsables des traces rouges-orangées à brunes qui se développent fréquemment sur les croustes de fromages lactiques (CUVILLIER, 2010). Par exemple, la bactérie *Pseudomonas* et la levure *Rhodotorula*, toutes deux très présentes dans l'environnement et pouvant se développer dans l'eau, le lait... pourraient être responsables de la couleur rouge d'une solution de kéfir. Une analyse ciblée de la solution de kéfir en laboratoire pourrait permettre de confirmer ou d'infirmer cette hypothèse.

## Conclusion

Cette période de stage, qui a servi de lancement à l'étude sur l'utilisation du kéfir en élevage multi filière, avait pour objectifs :

- De faire un premier état des lieux de la qualité des solutions de kéfir en élevage en fonction des pratiques des éleveurs.
- De découvrir la cinétique d'évolution d'un kéfir pour savoir comment sa qualité évolue à différentes périodes : mise en place, repos et distribution.

Ce stage m'a permis de découvrir une nouvelle méthode alternative à l'utilisation d'antibiotiques et de me rendre compte de l'importance de bien maîtriser la santé du tube digestif des animaux en élevage. En effet, un animal qui mange bien et qui a une bonne flore intestinale implantée dans son tube digestif est un animal rarement malade. De plus, la prise de contact et les rendez-vous avec les éleveurs enquêtés m'ont confortée dans mon futur projet professionnel de conseiller en élevage, qui demande d'avoir un bon relationnel.

L'enquête a permis de confirmer la grande diversité des pratiques d'utilisation du kéfir en élevage. Cependant, on retrouve des pratiques d'utilisation similaires entre les éleveurs d'une même filière. Par exemple, les éleveurs de bovins ont tendance à utiliser un support lait pour leur solution de kéfir, tandis que les éleveurs de porcs utilisent plus facilement de l'eau sucrée. La qualité du kéfir est significativement influencée par les pratiques d'entretien du kéfir. En effet, les solutions de kéfir à base de lait sont de meilleure qualité que les solutions à base d'eau. A contrario, les premiers résultats montrent que l'origine du kéfir (fait maison ou commercial prêt à l'emploi), n'a pas d'impact sur la qualité des solutions dans notre échantillon. Ces observations sont plutôt réconfortantes car elles signifient que peu importe la provenance du kéfir, s'il est bien entretenu au cours du temps, sa qualité est bonne.

Ces premiers résultats marquent le début d'une longue étude sur une source de probiotiques qui reste encore mal connue. A la suite de mon stage, d'autres enquêtes et analyses seront réalisées pour enrichir les données et agrandir notre échantillon. De plus, une étude de l'impact du kéfir sur la santé des animaux sera réalisée afin de confirmer ou d'infirmer les vertus prédites de celui-ci sur la santé digestive. Toutes ces études mèneront à l'élaboration de recommandations pour l'utilisation du kéfir en élevage.

## Bibliographie

ALIM' AGRI, 2016. Plan Eco Anti bio 2012-2017 : lutte contre l'antibiorésistance [en ligne] disponible sur : <<http://agriculture.gouv.fr/plan-ecoantibio-2012-2017-lutte-contre-lantibioresistance>> (consulté le 04/04/18).

BOURLIOUX P., 2014. Composition et rôles de la flore intestinale [en ligne] disponible sur : <<http://institutdanone.org/objectif-nutrition/composition-et-roles-de-la-flore-intestinale-mieux-connaître-son-importance/dossier-composition-et-roles-de-la-flore-intestinale/>> (consulté le 05/04/2018).

CODEX STAN 243-2003, 2010. Normes CODEX pour les laits fermentés [en ligne] disponible sur : <[www.fao.org/input/download/standards/400/CXS\\_243f.pdf](http://www.fao.org/input/download/standards/400/CXS_243f.pdf)> (consulté le 24/04/18).

CUVILLIER D., 2010. L'accident du rouge sur la surface des fromages lactiques [en ligne] disponible sur : <[http://cfbourgogne.free.fr/IMG/pdf/fiche\\_rouge.pdf](http://cfbourgogne.free.fr/IMG/pdf/fiche_rouge.pdf)> (consulté le 17/05/18).

DGCCRF, 2017. Date limite de consommation (DLC) et date de durabilité minimale (DDM) [en ligne] disponible sur : <<https://www.economie.gouv.fr/dgccrf/Publications/Vie-pratique/Fiches-pratiques/Date-limite-de-consommation-DLC-et-DDM>> (consulté le 24/04/18).

MAUPERTUIS F., 2013. Prévenir les pathologies digestives en post-sevrage par l'apport de germes probiotiques [en ligne] disponible sur : <[http://www.pays-de-la-loire.chambres-agriculture.fr/fileadmin/user\\_upload/National/FAL\\_commun/publications/Pays\\_de\\_la\\_Loire/2014\\_depliant\\_prevenir\\_pathologies\\_digestives\\_porcs\\_BAT\\_V2\\_BD.pdf](http://www.pays-de-la-loire.chambres-agriculture.fr/fileadmin/user_upload/National/FAL_commun/publications/Pays_de_la_Loire/2014_depliant_prevenir_pathologies_digestives_porcs_BAT_V2_BD.pdf)> (consulté le 17/05/18).

MAUPERTUIS F., DUBOIS A., COPPENRATH D., 2013. Alternative à la médecine vétérinaire conventionnelle : Intérêt et mise en œuvre de la distribution de kéfir au porcelet. Chambres d'agriculture des pays de la Loire et du Maine et Loire, 17p.

MERDIGNAC M., 2018. Le kéfir, la boisson fermentée qui a la cote [en ligne] disponible sur : <https://www.ouest-france.fr/leditiondusoir/data/14761/reader/reader.html#!preferred/1/package/14761/pub/21434/page/22> (consulté le 18/05/18).

MORIN A., 2017. Appel à projet PEI de la Région Pays de la Loire "Innover en santé animale et végétale : une opportunité pour concevoir des systèmes agricoles multi-performants". Chambre d'agriculture des pays de la Loire, 58p.

PARAGON B.M., ANDRIEU J.P., BRUNSCHWIG P., GAILLARD F., GRIESS D., HEUCHEL V., PIRIOU B., WEISS P., VALENTIN S., 2004. Bonnes pratiques de fabrication de l'ensilage pour une meilleure maîtrise des risques sanitaires [en ligne] disponible sur : <https://www.anses.fr/fr/system/files/ALAN-Ra-ensilage.pdf> (Consulté le 09/05/18).

THEIXEIRA MAGALHAES K, VINICIUS DE M PEREIRA G., CAMPOS C.R., FREITAS SCHWAN R., 2014. Brazilian kefir: Structure, microbial communities and chemical composition [en ligne] disponible sur : [https://www.researchgate.net/publication/256542000\\_Brazilian\\_kefir\\_Structure\\_microbial\\_communities\\_and\\_chemical\\_composition](https://www.researchgate.net/publication/256542000_Brazilian_kefir_Structure_microbial_communities_and_chemical_composition) (consulté le 04/05/18).

ZOURARI A., ANIFANTAKIS E.M., 1998. Le Kéfir. Caractères physico-chimiques, microbiologiques et nutritionnels. Technologie de production. Une revue. Le lait, INRA Edition, 68 (4), pp.373-392.

---

# ANNEXES

---

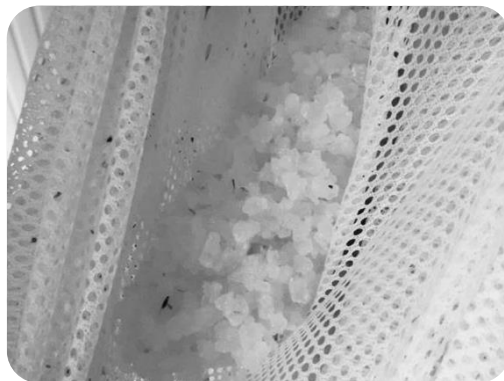
Léa GABRYSIK  
M1 Agrosociences 2017-2018

---



Département professionnel  
**Agrosociences**

**UT** université  
de **TOURS**



## Table des annexes

ANNEXE 1 : Enquête : Utilisation du Kéfir en multi-filière	1
ANNEXE 2 : Exemples de graphiques d'analyse des moyennes et intervalles de confiance à 95%	7

## Annexe 1

Élevage :

Date :

---

### **Enquête : Utilisation du Kéfir en multi-filière**

---

Dans le cadre du projet « Innover en santé animale et végétale : une opportunité pour concevoir des systèmes agricoles multi-performants », nous réalisons une étude sur l'utilisation du kéfir en multi filièrè.

La première étape de l'étude consiste à réaliser une enquête dans l'objectif de faire un état des lieux de l'utilisation du kéfir en élevage.

En parallèle de cette enquête, des échantillons de 100ml de kéfir seront prélevés dans les élevages enquêtés. Ces prélèvements seront analysés en laboratoire, afin de connaître la composition des kéfirs en termes de proportions en bactéries lactiques et levures / moisissures.

Ces résultats vous seront communiqués afin que vous puissiez connaître la qualité de votre kéfir et que vous puissiez comparer vos kéfirs entre utilisateurs.

La récolte de ces différentes données permettra dans un premier temps de faire un lien entre la gestion du kéfir et la qualité de celui-ci.

#### **a. Profil de l'élevage**

Main d'œuvre sur l'atelier :

Type d'exploitation :  Volailles  Porcs  Bovins

Taille du cheptel :

---

---

## **b. Mise en place de l'utilisation du kéfir**

1. Comment avez-vous connu le Kéfir ? / Où avez-vous entendu parler du Kéfir pour la première fois ?

---

---

---

2. Depuis combien de temps avez-vous mis en place la distribution de Kéfir dans votre élevage ?

---

---

---

3. Quelles ont été vos motivations pour mettre en place la distribution de Kéfir dans votre élevage ? / Pour quel(s) usage(s) avez-vous décidé de mettre en place la distribution de Kéfir ?

---

---

---



### c. Préparation et entretien du Kéfir

4. D'où vient votre kéfir ? Combien vous coûte le Kéfir à l'achat (*si achat*) / à combien vous revient sa préparation ?

- Pharmacie    Comptoir des plates    Lait

---

---

---

5. Comment préparez-vous votre Kéfir ?

**Recette :**

---

---

---

**Caractéristiques du support** (*eau du réseau, chlorée, autre....*) :

---

---

---

**Entretien en période de repos** (*réensemencement, apport de nutriments...*) :

---

---

---

**Entretien en période de distribution** (*réensemencement, apport de nutriments...*) :

---

---

---

6. A quelle fréquence renouvelez-vous votre Kéfir ? Quels sont les critères qui vous amènent à le renouveler ?

---

---

---

## d. Distribution du Kéfir

Stade physiologique	Objectifs	Moyens de distribution	Fréquence d'apport  Durée apport/repos	Quantité apportée
Porcelets maternité	<input type="checkbox"/> Lutte Dia <input type="checkbox"/> Améliorer consommations <input type="checkbox"/> Autre	<input type="checkbox"/> Pulvérisation mamelle <input type="checkbox"/> Augettes <input type="checkbox"/> Autre	___ Par jours ___ Par semaine ___ Par mois	___ Par pclts ___ Par case ___ Par bande
PS	<input type="checkbox"/> Lutte Dia <input type="checkbox"/> Améliorer consommations <input type="checkbox"/> Autre	<input type="checkbox"/> Canalisations <input type="checkbox"/> Augettes <input type="checkbox"/> Autre	___ Par jours ___ Par semaine ___ Par mois	___ Par pclts ___ Par case ___ Par bande
Truies	<input type="checkbox"/> Lutte Dia <input type="checkbox"/> Améliorer consommations <input type="checkbox"/> Autre	<input type="checkbox"/> Canalisations <input type="checkbox"/> Auges <input type="checkbox"/> Autre	___ Par jours ___ Par semaine ___ Par mois	___ Par truies ___ Par case ___ Par bande
Autre	<input type="checkbox"/> Baisser pression sanitaire <input type="checkbox"/> Autre			

7. Aux animaux de quel stade distribuez-vous le Kéfir et dans quel(s) objectif(s) ?  
*(différencier les attentes de l'éleveur si utilisation à différents stades)*

8. Par quel(s) moyen(s) distribuez-vous le Kéfir à vos animaux ? En quelle quantité (*par case, par animal...*) ?

9. A quelle fréquence distribuez-vous le Kéfir et pendant combien de temps ? Quelle est la durée des périodes de repos ?

10. Quel est votre besoin journalier en Kéfir en période de distribution et quelles quantités avez-vous en stock en routine sur l'élevage ?

### e. Appréciation de l'utilisation du Kéfir

11. Avez-vous observé des changements en termes de résultats/performances de votre troupeau depuis que vous utilisez le Kéfir dans votre élevage ? Si oui, lesquels ?

---



---



---

12. Avez-vous rencontré des problématiques lors de la mise en place, la préparation et la distribution (*et autre*) du kéfir ? Si oui, les quelles ? Comment avez-vous fait face à ces difficultés ? Avez-vous été accompagné / guidé ?

---



---



---

	Problématiques	Gestion des problèmes
Mise en place		
Préparation		
Distribution		
Autre		

13. Avez-vous déjà été tenté d'arrêter le kéfir ? Si oui, pourquoi ?

---



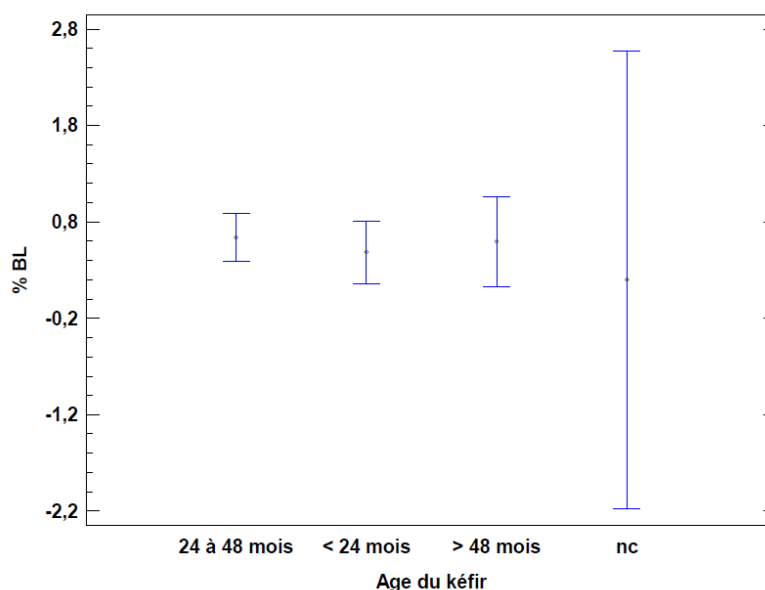
---

## Annexe 2

### Exemples de graphiques d'analyse des moyennes et intervalles de confiance à 95%

Exemple dans le cas d'un résultat non significatif :

Moyennes et intervalles de confiance à 95,0% (s individuels)



Exemple dans le cas d'un résultat significatif :

Moyennes et intervalles de confiance à 95,0% (s individuels)

