

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Microbiologie Alimentaire et Santé



Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Etude du procès de fabrication et de la qualité
microbiologique de différents types de fromages
industriels et fabrication d'un fromage frais artisanal**

Présenté par M^{elles}:

AISSOU Zina et ABBAS Salima

Soutenu le : 15 Juin 2016

Devant le jury composé de :

M^{me} MERDJANE-LAINCER Firdaous

MAA Présidente

M^{elle} BENDALI Farida

MCA Encadreur

M^{me} IDRES-KERAMANE Badria

MAA Examinatrice

Année universitaire : 2015 / 2016

Dédicaces

Je dédie ce travail, en signe de respect et de reconnaissance, à mes parents chéries pour leur sacrifice, leurs soutiens moral et financier et affectif tout au long de mon parcours scolaire et à ma sœur qui a été toujours présente à mes cotés et qui m'a soutenu.

Je tiens à remercier mon beau frère Mohand pour sa participation et je remercie nouria et tous mes proches pour leur contribution de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Je remercie ma binome Salima et toute sa famille

Je remercie également mes amis et camarades : Lydia, Feriel, Sabrina, Samira, Ryma, Ryma et Souad pour leur partage et leur bienveillance.

Zina

Dédicaces

Je dédie ce travail à:

*Celle qui tient le paradis sous ses pieds, à mon ange, à ma
chère mère qui m'a entouré avec sa tendresse,*

*Mon cher père qui m'a beaucoup aidé avec son soutien tout
au long de mes études,*

Mes deux trésors frères Abd El Halim et Fouad

Mes deux adorables sœurs Nadjet et la petite Wassila

Toute la famille ABBAS et TARGUI

Ma camarade et binôme Zina et sa famille

*Tous mes amis (es) et à toute la promotion 2015-2016 de
Microbiologie Alimentaire et Santé*

Tous ceux qui m'ont soutenu de près ou de loin.

Salima

Remerciements

Nous tenons à remercier notre promotrice M^{lle} BENDALI Farída, pour son aide précieuse et le temps consacré pour notre orientation tout au long de la période de réalisation de ce travail.

Nous tenons à remercier profondément Mme MERDJANE née LAICER Firdaous pour avoir bien voulu présider ce jury et nous faire bénéficier de son examination rigoureuse et pertinente.

Nos sincères remerciements sont adressés à Mme IDRES née KERAMANE Badria pour avoir bien voulu examiner notre travail et rehausser sa qualité à travers ses remarques et critiques judicieuses.

Nous tenons à exprimer notre gratitude à l'ensemble de l'équipe pédagogique qui nous a formé tout au long de notre parcours universitaire et nous a permis de nous préparer à la vie active.

Merci à tous

Liste des abréviations

Aw : Activity of water.

ATP: Adénosine Tri-Phosphate

BPF : Bonnes Pratiques de Fabrication.

BPH : Bonnes Pratiques d'hygiène.

B.E.A : Bile Escucline Azide.

BN : Bouillon Nutritif.

DLC : Date Limite de Consommation

En. : *Enterococcus*

EST : Extrait Sec Total.

E.M.B : Eosine Methylene Blue.

ESD : Extrait Sec Dégraissé.

EVA : Ethyl Violet Azide.

EPEC : EnteroPathogenic *Escherichia coli*.

FTAM : Flore Totale Aérobie Mésophile.

Fr₂ : Fromage pendant fabrication.

Fr_s : Fromage salé après conservation pendant 24 h.

Fr_c : Fromage non salé après conservation pendant 24 h.

MG/ES: Matière Grasse/Extrait Sec.

H : Humidité.

ISO : International Standardization Organization.

J.O.R.A : Journal Officiel de la République Algérienne.

LDH : Lactate déshydrogénase

L. : *Listeria*.

Lb. : Lactobacilles.

Lc. : *Lactococcus*

MPF : Maturateur à Pate Fraiche.

MG : Matière Grasse

MGLA : Matière Grasse Laitière Anhydre

MP : Matière Première.

MRS : Man Rogosa et Sharpe.

NF : Norme Française.

NSLAB : No Starter Lactic Acid Bacteria.

Pd. : *Pediococcus*.

P. : *Penicillium*

PCA : Plate Count Agar.

SM : Solution Mère.

S.A.R.L. : Société A Responsabilité Limitée.

SIN : Système International de Numérotation des additifs alimentaires.

S. : *Staphylococcus*

STEC : Shiga Toxine *Escherichia coli*.

UHT : Ultra Haute Température.

UFC : Unité Formant Colonie.

VRBL : Violet cristal Rouge neutre Bile Lactose

Liste des figures

Figure 01: Schéma général de l'analyse microbiologique des fromages industriels.....	13
Figure 02: Préparation de la solution mère et des dilutions décimales pour l'analyse microbiologique du fromage	15
Figure 03: Analyse microbiologique du lait cru.....	20
Figure 04: Diagramme de fabrication du fromage artisanal au laboratoire.....	23
Figure 05: Résultats de l'analyse microbiologique des fromages frais.....	25
Figure 06: Résultats de l'analyse microbiologique des fromages fondus.....	30
Figure 07: Résultats de l'analyse microbiologique des fromages à pate molle.....	34
Figure 08: Résultats de l'analyse microbiologique du lait cru.....	39
Figure 09: Résultats de l'analyse microbiologique du fromage frais fabriqué.....	40

Liste des figures en annexes

Figure 01 : Diagramme de fabrication du fromage fondu à l'unité Ramdy (W. Bejaia)	
Figure 02 : Diagramme général de la technologie de fabrication du Camembert industriel	
Figure 03: Diagramme de fabrication du fromage à pâte molle type « Camembert » à l'unité Draa Ben- Khedda (Tizi Ouzou)	
Figure 04 : Diagramme de fabrication du fromage à pâte molle de type « Camembert » à l'unité Ibarissaen (W. Béjaia)	
Figure 05 : Diagramme général de la technologie de fabrication des fromages frais	
Figure 06 : Diagramme de fabrication du fromage frais « Danino » à l'unité Danone (W. Béjaia)	

Liste des tableaux

Tableau I. Composition moyenne des principaux fromages pour 100g.....	05
Tableau II. Caractères de sélection des levains fongiques en fromagerie.....	07
Tableau III. Analyse microbiologique des fromages industriels.....	17
Tableau IV. Analyse microbiologique du fromage artisanal.....	24

Liste des tableaux en annexes

Annexe I

Tableau I. Caractéristiques des fromages frais industriels analysés	
Tableau II. Caractéristiques des fromages à pâte molle industriels analysés	
Tableau III. Caractéristiques des fromages fondus industriels analysés	
Tableau IV. Normes Algériennes	
Tableau V. Normes Françaises de 1987	
Tableau VI. Normes Européennes	
Tableau VII. Normes du Luxembourg	
Tableau VIII. Résultats de l'analyse microbiologique des fromages frais	
Tableau IX. Résultats de l'analyse microbiologique des fromages fondus	
Tableau X. Résultats de l'analyse microbiologique des fromages à pâte molle	
Tableau XI. Résultats de l'analyse microbiologique du lait cru	
Tableau XII. Résultats de l'analyse microbiologique du fromage artisanal	
Tableau XIII. Résultats des tests d'identification des coliformes fécaux retrouvés dans les fromages industriels	
Tableau XIV. Résultats des tests d'identification des coliformes fécaux retrouvés dans le fromage artisanal et dans le lait cru	

Tableau XV. Résultats des tests d'identification de *Staphylococcus aureus* isolé des fromages industriels

Tableau XVI. Résultats des tests d'identification de *S. aureus* isolé du fromage artisanal et du lait cru

Tableau XVII. Résultats des tests d'identification des entérocoques

Tableau XVIII. Résultats des tests d'identification de la flore lactique isolée des fromages industriels

Tableau XIX. Résultats d'identification de la flore lactique isolée du fromage artisanal et du lait cru

Annexe II : Composition des milieux de culture

Tableau I. Bouillon MRS

Tableau II. Bouillon nutritif (BN)

Tableau III. Bouillon cœur-cerveille (BHI)

Tableau IV. Bouillon SFB + Cystéine

Tableau V. Bouillon Roth

Tableau VI. Bouillon EVA LITSKY

Tableau VII. Bouillon de Shubert

Tableau VIII. Gélose nutritive (GN)

Tableau IX. Gélose Baird Parker

Tableau X. Gélose Hektoen Enteric

Tableau XI. Gélose VRBL

Tableau XII. Gélose Slanetz et Bartley

Tableau XIII. Gélose MRS

Tableau XIV. Gélose E.M.B

Tableau XV. Gélose P.C.A

Tableau XVI. Gélose B.E.A

Sommaire

Introduction.....	01
-------------------	----

Synthèse bibliographique

I. Le fromage.....	03
I. 1. Définition.....	03
I. 2. Variétés de fromages et technologie de leur fabrication.....	03
I.2.1. Fromage fondu.....	03
I.2.2. Fromage à pâte molle.....	04
I. 2. 3. Fromage frais.....	04
II. Composition du fromage.....	05
III. Procédés de fabrication du fromage.....	06
III.1.Matière première	06
III.1.1.Lait.....	06
III.1.2. Levains lactiques	06
III.1.3. Levains fongiques.....	07
III.2. Transformations fromagères	07
III. 2. 1. Métabolisme des glucides : Fermentation lactique.....	07
III. 2. 2. Métabolisme des protéines.....	08
III. 2. 3. Métabolismes des lipides.....	08
III. 3. Enzymes coagulantes : La présure	08
IV. Flore microbienne du fromage.....	09
IV.1. Flore originelle.....	09
IV.2. Flore apportée.....	11

IV.3. Flore de contamination.....	11
V. Normes microbiologiques.....	12

Matériel et méthodes

I. Analyse microbiologique de fromages industriels.....	13
I. 1. Présentation des échantillons de fromages industriels analysés.....	14
I. 1. 1. Nombre d'échantillons.....	14
I. 1. 2. Lieu de prélèvement et transport au laboratoire.....	14
I. 1. 3. Analyses microbiologiques.....	14
I. 1. 4. Identification des différentes flores.....	17
II. Fabrication d'un fromage artisanal.....	20
II. 1. Analyse microbiologique du lait cru	20
II. 2. Description des différentes analyses microbiologiques.....	20
II. 3. Protocole de fabrication du fromage artisanal.....	23

Résultats et discussion

I. Analyse microbiologique des fromages industriels et du fromage artisanal...	25
I.1. Fromages frais.....	25
I.2. Fromage fondu.....	30
I.3. Fromages à pâte molle.....	34
I.4. Fromage artisanal.....	39
I.4.1. Analyse du lait cru.....	39
I.4.2. Analyse du fromage frais fabriqué.....	40

Conclusion.....45

Références bibliographiques

Annexes

Introduction

Introduction

Le fromage fut à son origine, un mode de conservation du lait ou du moins des éléments susceptibles d'être conservés, au prix de fermentations que l'Homme a appris à diriger (**Eck et Gillis, 2006**). Le fromage constitue un élément important dans l'alimentation humaine. Ses taux élevés en lactose, lipides et en protéines en font de lui un aliment nutritif, riche en énergie (**Walther et al., 2008**).

Les bactéries lactiques interviennent essentiellement dans deux étapes de fabrication des fromages, la coagulation et l'affinage, un lait pasteurisé perd une grande partie de sa flore microbienne, qu'elle soit utile ou pas. Pour permettre la fermentation et la production d'arômes, le lait pasteurisé doit donc être réensemencé par des levains, fournis sous forme liquide ou lyophilisée (**Ray, 2003**). Les bactéries lactiques acidifiantes ont une grande importance dans l'économie et présentent une grande utilité du point de vue technologique; les lactocoques et les espèces mésophiles sont les plus utilisés comme ferments lactiques dans de nombreuses fabrications fromagères (**Renault, 1996**). Selon la technologie mise en œuvre, on en distingue plusieurs variétés de fromages dont les fromages frais, à pâte molle et fondus.

La qualité microbiologique de ces différents types de fromages est liée à leurs procédés de fabrication et leurs caractéristiques physico-chimiques desquels relèvent la persistance et la survie des microorganismes s'y trouvant. Le pH, la température et l'activité de l'eau (A_w), pour ne citer que ceux là, ont des effets significatifs sur la viabilité et l'activité de la flore microbienne de tout produit alimentaire (**Lenovich, 1987**).

Dans l'élaboration industrielle du fromage, la pasteurisation est le moyen d'éliminer le risque potentiel que peut présenter la survie des microorganismes pathogènes et d'altérations. Cependant, ce traitement détruit également la majeure partie des bactéries lactiques, ce qui nécessite un ré-ensemencement du lait pasteurisé par cette flore, d'une manière contrôlée, pour une production fromagère. Malheureusement, les mêmes ferments lactiques sont fréquemment utilisés pour la conception de nombreuses variétés de fromages et il est impossible de produire chaque variété avec ses caractéristiques typiques à l'aide des mêmes souches commerciales (**Burgos et Ordonez, 1977**).

De ce fait, des productions artisanales sont reconnues en parallèle et sont très prisées par le consommateur, mais elles sont plus difficiles à mettre en œuvre et nécessitent une maîtrise de la flore naturelle du lait cru, à l'origine de la saveur et de la typicité de ces fromages. En effet, la qualité du fromage obtenu dépend de la phase de coagulation mais également du développement de la flore microbienne. Or l'ensemencement microbien du lait est naturel et débute dès la traite, jusqu'au moment du caillage, des règles très strictes de nettoyage et de désinfection sont appliquées dans le but de préserver l'équilibre de la flore nécessaire en fromagerie et de prévenir le développement des flores d'altérations et/ou pathogènes (**Pradal, 2012**). Cependant, le lait cru et le fromage issu de ce lait, peuvent être sources de plusieurs intoxications dues aux bactéries pathogènes susceptibles d'être présentes telles que *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* et *S. aureus* (**Letondeur et Lahlec, 2000; Yoon et al., 2015**).

L'objectif de ce travail est :

Dans un premier temps : la comparaison de la qualité microbiologique de différents types de fromages Algériens industriels (frais, fondus et à pâte molle) entre eux et avec celle d'un fromage artisanal fabriqué au laboratoire.

Dans un deuxième temps : de mettre en évidence l'influence du procès de fabrication et la composition du produit sur leur qualité microbiologique, tout en mettant l'accent sur les sources possibles de contamination.

Pour ce faire et afin de cerner le contexte de cette étude, une synthèse bibliographique relative au sujet est confectionnée donnant un aperçu sur les fromages et la technologie de leur fabrication. Par la suite, la méthodologie adoptée dans cette étude sera bien détaillée et les résultats obtenus seront discutés en comparant entre eux et en se référant à la littérature. Enfin, la conclusion à laquelle ils ont amené et des perspectives seront présentées.

Synthèse bibliographique

I. Le fromage

I. 1. Définition

D'après **Gillis (2000)**, le fromage, selon la norme *Codex*, est le produit affiné ou non affiné, de consistance solide ou semi-solide, dans lequel le rapport protéines de sérum/caséines ne dépasse pas celui du lait et qui est obtenu :

- a) Par coagulation complète ou partielle des matières premières suivantes: du lait, du lait écrémé, du lait partiellement écrémé, de la crème, de la crème de lactosérum ou du babeurre, seuls ou en combinaison, grâce à l'action partielle du lactosérum résultant de cette coagulation et /ou,
- b) Par l'emploi de techniques de fabrication entraînant la coagulation du lait et/ou de matières provenant du lait de façon à obtenir un produit fini ayant des caractéristiques physiques, chimiques et organoleptiques similaires à celles du produit défini au paragraphe a).

I.2.Variétés de fromages et technologie de leur fabrication

I. 2. 1. Fromage fondu

Le fromage fondu était à l'origine une forme de recyclage du gruyère défectueux, puis d'autres fromages. Le fromage fondu résulte d'un mélange de fromages avec addition de sels minéraux ou organiques autorisés appelés sels de fonte qui agissent comme émulsifiants et chélatants et sont autorisés à 3% dans le produit fini. Ces sels sont utilisés dans le procédé de fonte, permettant le passage à un état homogène où la masse de fromage peut être pasteurisée et coulée dans l'emballage à chaud. Afin d'atteindre des températures de 90-95°C voir 120-125°C pour la stérilisation, la cuisson et le brassage s'effectuent dans des pétrins à double paroi (**Beerens et Luquet, 1987; Mahaut et al., 2000**).

Du point de vue microbiologique leur classification est faite suivant : leur composition et leur mode de conditionnement. Seules résistent les flores sporulées (genre *Clostridium*) dont la croissance est inhibée si le pH est inférieur à 5,7 ou lors d'ajout d'agents inhibiteurs (bactériocine) (**Beerens et Luquet, 1987**). La longue durée de conservation permet l'exportation de ce type de fromages dans les pays chauds (**Mahaut et al., 2000**).

Le diagramme de fabrication du fromage fondu fabriqué à l'unité « Ramdy » est donné en annexe I.

I. 2. 2. Fromage à pâte molle

Ce groupe de fromages peut bien regrouper des produits traditionnels qu'industriels. Ce type de fromage est caractérisé par une coagulation mixte équilibrée avec une concentration d'enzyme coagulante moyenne (18 à 22 ml /100 l lait), un taux de bactéries lactiques de $5 \cdot 10^6$ UFC/ml, une température adéquate à la croissance des bactéries lactiques et à l'enzyme coagulante (32-35°C) et une activité acidifiante (pH de l'emprésurage 6,30-6,40). Ce schéma conduit à un coagulum mixte avec un égouttage moyen par une acidification importante et une longue élimination du lactosérum (**Eck et Gillis, 2006**). Un diagramme de fabrication d'un fromage type « camembert » est donné sur la figure 02 (annexe I).

Il existe des fromages à caractère mixte mais à dominance soit lactique (Brie) ou enzymatique, fonction de la concentration des coagulants et de la température du lait (32 - 35°C) et de la durée de la coagulation. En Algérie, les fromages sont à dominance lactique (annexe I).

Ces fromages subissent un égouttage lent, permettant la poursuite de l'acidification et de la déminéralisation, tranchage avant moulage facultatif, égouttage lent conduisant à une plus forte destruction du gel et à une moindre cohésion de la pâte du fromage (**Eck et Gillis, 2006**).

Vers la fin, tous les fromages à pâte molle subissent un affinage grâce à une microflore adaptée, ferments lactiques, *Geotrichum candidum* et *Penicillium candidum*. La saveur de la croûte fleurie s'obtient par catabolisme de la méthionine par *Brevibacterium linens* ou *Geotrichum candidum* tandis que la croûte lavée, une flore de surface la caractérise telles que les bactéries corynéformes et les microcoques responsable de la dégradation des acides aminés en acides gras volatils (**Mahaut et al., 2000; Eck et Gillis, 2006**).

I. 2. 3. Fromage frais

Le fromage frais est une pâte très humide, peu minéralisée, c'est le produit d'une coagulation lente à dominance acide, obtenue grâce à l'action des bactéries lactiques combinée ou non à celle d'une faible quantité de présure (1-5 ml/100 l de lait) et un temps d'incubation long (**Eck et Gillis, 2006**).

Ces fromages ont une grande diversité selon le degré d'égouttage du coagulum et la teneur en matière grasse du lait mis en œuvre. Leur teneur en protéines et en calcium quelque soit le type de fromage frais leur confère une qualité nutritionnelle importante (**Mahaut et al., 2000 ;Eck et Gillis, 2006**).

L'égouttage est une prolongation du contact de l'acide lactique et des micelles de caséines d'une façon statique sans traitement physique. Selon le type d'égouttage effectué, deux catégories se distinguent : le fromage égoutté en moule et le fromage égoutté en vrac sous forme de pâte et où l'égouttage passe avant le moulage (**Eck et Gillis, 2006**).

Dans ce type de fromage, seul quelques exceptions subissent l'étape d'affinage à cause de la forte teneur en eau et de l'évolution biochimique rapide (risque d'altération) (**Vignola,2002**). Un diagramme de fabrication du fromage « Danino » par l'unité « Danone Algérie » est donné sur la figure 06 (annexe I).

II. Composition du fromage

Le fromage est très riche de part sa composition, en protéines, eau, peptides bioactifs, acides aminés, lipides, acides gras, vitamines et en minéraux (**Walther et al., 2008**).

Le tableau I illustre la composition moyenne des différents types de fromages.

Tableau I. Composition moyenne des principaux fromages pour 100 g (**Eck et Gillis, 2006**).

Constituants	Fromage frais	Fromage à pâte molle	Fromage fondu
Eau (g)	80	50	48
Glucides (g)	4	4	2,5
Lipides (g)	7,5	24	22
Protéines (g)	8,5	20	18
Calcium (mg)	100	400	680
Sodium (mg)	40	700	1650
Vitamine A (UI)	170	1010	1200

UI : Unité Internationale

III. Procédés de fabrication du fromage

III. 1. Matière première

III. 1. 1. Lait

En fromagerie différentes formes de lait peuvent être utilisées, en distingue : Le lait frais qui est utilisé comme tel ou après pasteurisation (**Richard et Desmazeaud, 1997**), et les poudres de lait qui sont des produits résultant de l'élimination partielle de l'eau du lait et sont divisées en trois groupes (poudre de lait entière, poudre de lait partiellement écrémé et poudre de lait écrémé (**Claude et al., 2002**). Le lait peut subir un traitement à une ultra haute température (UHT), qui consiste à chauffer le lait à une température d'au moins 132°C/quelques secondes, et par la suite le conditionné aseptiquement et le scellé dans le but : d'assurer une période de conservation prolongée, une stabilité et une saveur durant la période de conservation pour satisfaire les exigences commerciales (**Claude et al., 2002**).

III. 1. 2. Levains lactiques

Un levain est constitué d'une souche pure ou d'une association de souches sélectionnées, isolées de fabrications traditionnelles en utilisant du lait cru, ou de collections de laboratoires. Les ferments utilisés dans la production fromagère ont tous en commun la même aptitude technologique qui est la production d'acide lactique en anaérobiose pendant leur croissance (**Eck et Gillis, 2006**).

Selon ces auteurs, c'est l'activité acidifiante qui caractérise la texture et la flaveur du fromage et l'acidité finale du caillé est importante au moment de l'affinage. De même, l'activité protéolytique (dégradation des caséines du lait pour assurer l'apport azoté) contribue au développement des caractères organoleptiques des fromages (flaveur typique et texture de pâte bien déterminée). De plus, ces ferments participent grâce à l'activité antimicrobienne par la production de composés antimicrobiens (acides organiques...) à la bio-conservation de ces fromages (**Eck et Gillis, 2006**).

III. 1. 3. Levains fongiques

Les levains fongiques, utilisés en fromagerie, peuvent être classés en quatre groupes: *Penicillium camemberti*, *P. roqueforti*, *Geotrichum candidum* et levures (Eck et Gillis, 2006). D'après cet auteur, la sélection des levains se fait selon les caractères naturels regroupés dans le tableau II.

Tableau II. Caractères de sélection des levains fongiques en fromagerie (Eck et Gillis, 2006).

Caractères cultureux	Caractères physiologiques	Caractères biochimiques
-Exemple (<i>P. camemberti</i>) : -La couleur, -Vitesse de croissance, -Densité, -Epaisseur du mycélium, -Odeur des cultures, -Vitesse de germination, -Aptitude à la sporulation, -Stabilité au vieillissement.	-Résistance au sel, -Comportement en fonction de la température (basse T°), -Comportement vis-à-vis du pH (désacidification des pâtes), -Effet antagoniste (<i>Mucor</i>), -Production de mycotoxines.	-Protéolyse (production d'enzymes protéolytiques), -Lipolyse (hydrolyse de la matière grasse), -Production de composés aromatiques (flaveur).

Les moisissures participent à la fabrication des fromages à pâte pressée ou molle dite fleurie, tandis que *Geotrichum* est recherché dans les pâtes pressées. *Penicillium camemberti*, (moisissure blanche) recouvre la plupart des fromages de type « camembert » (Ait Abdelouahab, 2001).

III. 2. Transformations fromagères

III. 2. 1. Métabolisme des glucides : Fermentation lactique

Le métabolisme des sucres, et en particulier du lactose, s'effectue selon la voie homo-fermentaire ou hétéro-fermentaire. La transformation finale du pyruvate en lactate, caractéristique de la fermentation lactique est catalysée par une lactate- déshydrogénase (LDH). Lorsque ce mécanisme de transformation du pyruvate en acide lactique est accéléré, il réprime d'autres voies métaboliques qui ne peuvent s'exprimer totalement que dans un milieu carencé en sucre (Choisy, 1987).

La concentration des produits terminaux, issus de la fermentation du glucose, permet de distinguer deux groupes de bactéries lactiques (**Thompson et Gentry, 1994**) :

- **Les homo-fermentaires** : sont composés majoritairement d'espèces de streptocoques, d'entérocoques, de lactocoques, pédiocoques et de lactobacilles homo-fermentaires, qui convertissent le glucose presque quantitativement en 90-95% d'acide lactique.
- **Les hétéro-fermentaires** : Ces bactéries fermentent le glucose avec production de moins de 1,8 mole d'acide lactique /mole de glucose en plus de l'éthanol, de l'acétate et du CO₂. Les principaux groupes appartenant à cette classe sont des leuconostoc et certains lactobacilles (*Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus buchmeri*) .

III. 2. 2. Métabolisme des protéines

Les bactéries lactiques possèdent de nombreuses protéases et peptidases. Le rôle de ces enzymes serait de libérer à partir des composés azotés du milieu, des constituants simples, nécessaires aux synthèses microbiennes. Les protéases localisées à la surface des bactéries assurent l'hydrolyse partielle de la caséine en polypeptides capables de diffuser à travers la paroi, ces polypeptides sont dégradés par des peptidases dans le cytoplasme (**Choisy, 1987**).

III. 2. 3. Métabolisme des lipides

L'activité lipolytique endocellulaire des levains lactiques, est également une activité faible; elle serait la résultante de lipases et d'estérases localisées au niveau du cytoplasme (**Choisy, 1987**).

III. 3. Enzymes coagulantes : La présure

Industriellement, la seule enzyme utilisée en fromagerie est la présure. C'est une endopeptidase qui entraîne une coagulation du lait par hydrolyse de la caséine kappa, ce qui déstabilise les micelles et conduit à la formation du gel. Son utilisation dans la fabrication fromagère existe sous deux formes : liquide et solide, les formes liquides sont les plus utilisées en industrie du fait de leur commodité d'emploi et leur disponibilité. La forme solide se trouve sous forme comprimé ou de poudre qui doit être diluée dans un excipient de chlorure de sodium et peut être utilisée sur le plan artisanal. L'origine de la dénomination présure provient de l'extrait coagulant provenant de la 3^{ème} poche de l'estomac (caillette) du chevreau et de l'agneau, la principale protéase est la chymosine (85% de l'activité coagulante) complétée par la pepsine (**Eck et Gillis, 2006**).

IV. Flore microbienne du fromage

IV. 1. Flore originelle

Le lait contient peu de microorganismes lors d'un prélèvement d'un animal sain ($< 10^3$ cellules /ml), il s'agit d'une flore saprophyte des canaux galactophores et du pis, dont des microcoques, des streptocoques lactiques et des lactobacilles. Le lait cru est protégé contre les bactéries par des substances inhibitrices (les lacténines) à action très courte (1 h), la flore banale ne présente pas de danger sanitaire mais peut se développer dans le lait et l'altérer (**Guiraud et Galzy, 1980**).

➤ Streptocoques lactiques

Les espèces de streptocoques sont homo- fermentaires strictes, se rencontrant chez l'Homme et les animaux, la plupart sont saprophytes toutefois certaines d'entre elles possèdent des caractères pathogènes (*Streptococcus pyogenes*), ce genre regroupe une bactérie d'intérêt industriel et nutritionnel *Streptococcus thermophilus* utilisée dans la fabrication du fromage (**Luquet, 1986; Jamet, 2009**).

➤ Lactocoques

Les lactocoques ont un métabolisme homo-fermentaire facultatif (**Jamet, 2009**). Le genre *Lactococcus* comporte plusieurs espèces et sous espèces, dont les plus importantes sont les espèces suivantes: *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar *diacetylactis*. Certains caractères biochimiques distinguent ces sous espèces et biovariants, telle que la production de diacétyl à partir du citrate, la désamination de l'arginine, la capacité à croître en présence de 4% de sel, à pH 9,2 et à une température de 40° C (**Badis et al., 2004**). Les deux sous espèces de *Lc. lactis* : *Lc. lactis* ssp. *lactis* et *Lc. lactis* ssp. *cremoris* se distinguent essentiellement par leur capacité acidifiante et leur croissance à 40°C. La sous espèce *Lc. lactis* ssp. *cremoris* est incapable de pousser au-dessus de 37°C. Le biovar *Lc. lactis* ssp. *lactis* biovar *diacetylactis*, utilise le citrate pour produire du diacétyl, de l'acétoïne et du CO₂ (**Badis et al., 2005**).

➤ **Lactobacilles**

Les lactobacilles contiennent de nombreuses espèces qui interviennent dans de nombreuses industries laitières, ils ont des exigences nutritionnelles très complexes en acides aminés, en vitamines, en acides gras, en glucides et en minéraux (**Badis et al., 2005**).

La subdivision de 1986 en trois groupes permet de distinguer le groupe I contenant les lactobacilles thermophiles utilisés pour l'acidification et caractérisés par un métabolisme homo-fermentaire stricte. La flore secondaire du groupe II et III non ferments (NSALB : Non Starter Acid Lactic Bacteria) croit pendant l'affinage, les espèces du groupe II sont des hétéro-fermentaires facultatives, utilisant deux voies métaboliques (la glycolyse et la voie des pentoses phosphates), celles du groupe III sont des hétéro-fermentaires strictes (pas de voie Embden-Meyerhof fonctionnelle) résistantes aux températures de cuisson et produisent du CO₂ (**Luquet, 1986; Jamet, 2009**).

➤ **Les pédiocoques**

Les pédiocoques sont des homo-fermentaires, sous forme sphérique ne formant pas de chainettes mais jamais isolés, avec une croissance à une température optimale de 25-40°C selon les espèces. Ce genre ne possède pas la capacité de métaboliser le lactose, toutefois un grand nombre de ces bactéries est retrouvé dans le fromage affiné, spécialement *Pd. acidilactici* et *Pd. pentacaseus*, avec une aptitude à acidifier le lait et des activités protéolytiques (protéasiques et peptidasiques) importantes (supérieures aux NSLAB) (**Jamet, 2009**).

➤ **Les entérocoques**

Les entérocoques sont des bactéries lactiques présentes dans l'intestin humain et des animaux et dans la flore naturelle du lait cru et du fromage (> 10⁶ UFC/g) avec un métabolisme homo-fermentaire stricte. Elles se différencient des autres coques (streptocoques et lactocoques) par leur capacité à croître à de faibles températures (10°C) et à résister aux sels (6,5% NaCl; 40% sels biliaires), et aux facteurs de l'environnement spécialement le traitement thermique (30 min à 60°C). Ce sont des opportunistes, avec la capacité de produire des bactériocines et de présenter une activité antagoniste vis-à-vis de certains agents pathogènes. Les plus connus dans le domaine fromager, associés à la fermentation, dans les fromages italiens, sont *Enterococcus faecium* et *En. faecalis* et parfois utilisés comme indice de contamination fécale (**Pillet et al., 2005; Jamet, 2009**).

➤ Les leuconostocs

Les leuconostocs sont généralement rencontrés dans le lait cru et les fromages fermiers et sont même utilisés dans la fabrication de fromage (Roquefort) en raison de leur production de composés aromatiques (diacétyle, acétoïne...) et de CO₂ (hétéro-fermentaires) qui participe à l'ouverture du fromage permettant le bon développement de *P. roquefortis*. Certaines espèces possèdent également la particularité de métaboliser l'acide citrique du lait en diacétyle avec l'association d'autres bactéries lactiques permettant ainsi l'obtention de l'arôme de beurre dans les fromages frais (Jamet, 2009).

IV. 2. Flore apportée

Les ferments lactiques utilisés sont des souches commercialisées telles que les bactéries mésophiles lactiques employées dans les fabrications au lait de vache, se sont des flores d'acidification (*Lactococcus lactis* et *Lc. cremoris*) et d'aromatisation (*Lactococcus* ssp. *lactis* biovar *diacetylactis*), mais aussi des bactéries thermophiles (*Streptococcus thermophilus*) utilisées dans les fromages à prise rapide (camembert) pour leur pouvoir protéolytique, permettant d'avoir un goût plus développé (Jaouen et Mouillot, 1985).

IV. 3. Flore de contamination

D'après Eck et Gillis (2006), le fromage est un aliment très susceptible aux contaminations, la présence de contaminants varie selon la capacité de leur développement, c'est le caractère physico- chimique et les conditions d'affinage et de stockage qui les définissent, trois critères sont importants:

- L'activité de l'eau (Aw) qui diminue avec le salage et devient inhibitrice à 0,95.
- Le potentiel d'oxydoréduction, élevé en surface (aérobie) et faible dans la pâte (anaérobie) favorise la sélection microbienne.
- Le pH variable dans le temps, en surface et en profondeur d'un fromage à un autre, la gamme 4,5-5,2 est la limite pour l'inhibition des microorganismes, néanmoins certaines exceptions sont visibles dont les champignons qui croient à un pH inférieur à la limite.
- En absence de traitement thermique pour les fromages au lait cru, les bactéries pathogènes s'accroissent fortement (conditions technologiques favorables) et peuvent être d'origine exogène (environnement) ou endogène (animale malade), la plupart de celles retrouvées dans le fromage sont des ubiquistes : bactéries originaire du lait cru (agents de mammites), *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*.

V. Normes microbiologiques

Les analyses microbiologiques de contrôle des fromages se font par l'industriel lui-même (auto contrôle) et par les services étatiques en se basant sur des normes issues du ministère du commerce. Les normes microbiologiques diffèrent d'un pays à un autre et d'un produit à un autre, pour le fromage, le dénombrement ou la recherche des différentes flores dépend du type de fromage. Les différentes normes sont données en annexe I (Tableaux IV-VII).

Matériel et méthodes

I. Analyse microbiologique de fromages industriels

Les analyses microbiologiques sont réalisées au niveau du laboratoire de Microbiologie (Bloc 9), de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie (Université de Bejaïa) du 18/02 au 08/05/2016. Trois types de fromages industriels (fromage frais, fondu et à pâte molle), appartenant à 11 marques différentes (tableaux I-III, annexe I), sont analysés au cours de cette étude. Les différentes analyses effectuées sont basées sur les normes Algériennes (J.O.R.A , 1998) et certaines flores (Flore Totale et Flore Lactique), d'intérêts hygiénique et technologique sont incluses dans l'analyse (figure 01).

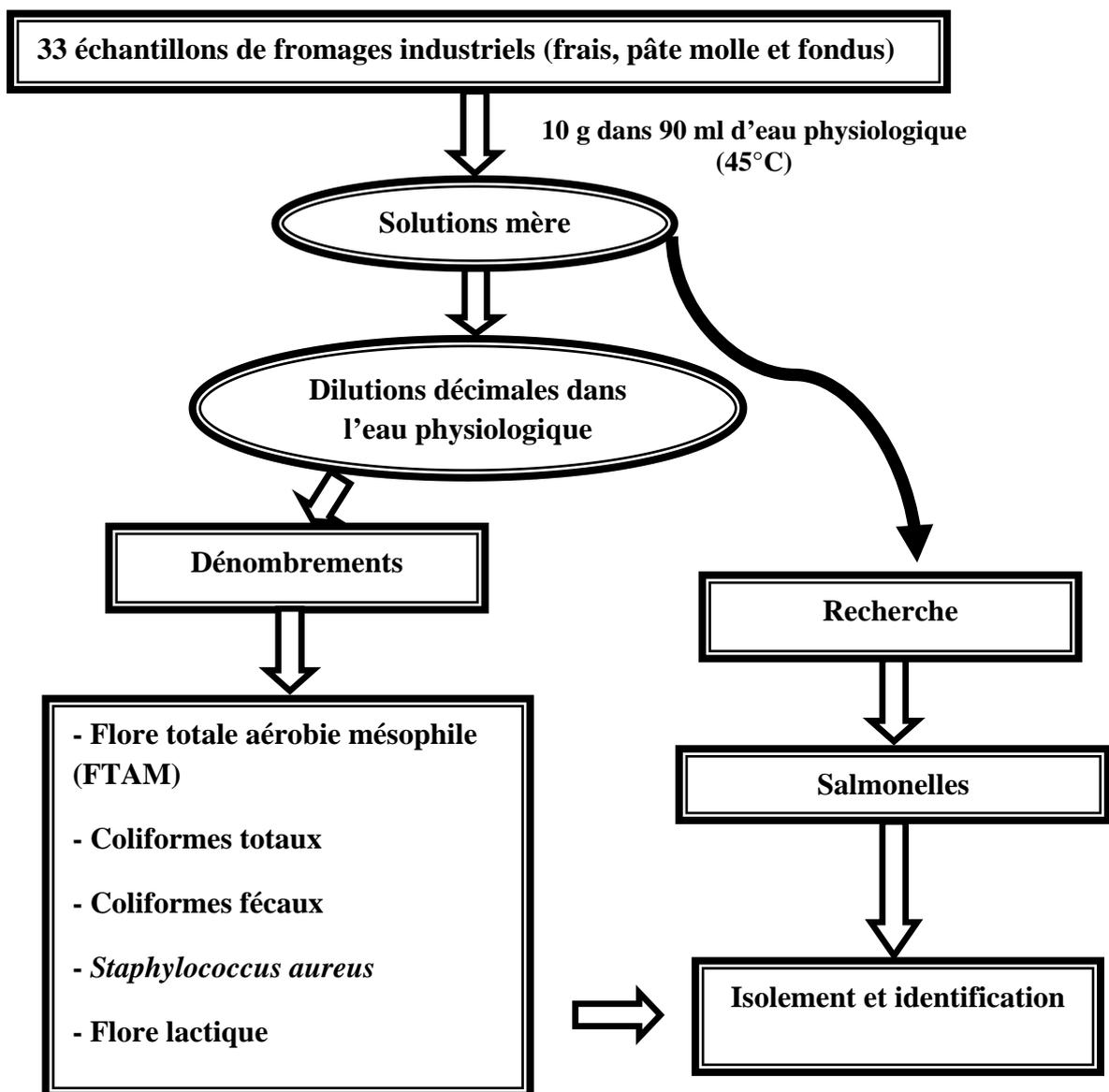


Figure 01. Schéma général de l'analyse microbiologique des fromages industriels

I. 1. Présentation des échantillons de fromages industriels analysés

I. 1. 1. Nombre d'échantillons

Dans cette étude, trois types de fromages industriels (frais, pâte molle et fondus) ont fait l'objet de différentes analyses microbiologiques. Onze échantillons dont 4 de fromages fondus, 2 de fromages à pâte molle et 5 de fromages frais ont été analysés avec 3 répétitions pour chaque fromage. Ce qui fait un total de 33 échantillons analysés (tableaux I, II et III ; annexe I).

I. 1. 2. Lieu de prélèvement et transport au laboratoire

Les échantillons sont prélevés de leurs points de vente (superettes) les plus proches du laboratoire (Targa Ouzemour, Madala, Soummam, W. Béjaia) et transportés rapidement au laboratoire et entreposés immédiatement au réfrigérateur (6°C).

I. 1. 3. Analyses microbiologiques

Une analyse microbiologique nécessite une préparation rigoureuse de l'échantillon à analyser en respectant les règles d'asepsie dans le but d'éviter toute contamination. Un échantillon pour analyse est formé en prélevant des portions sur tous les cotés, en surface et en profondeur du fromage afin de constituer un échantillon représentatif, suivi de sa pesée. Ce dernier est bien homogénéisé pour la préparation de la solution mère et éventuellement des dilutions décimales.

– Préparation de la solution mère et des dilutions décimales

Dans des conditions d'asepsie, 10 g de fromage sont homogénéisés dans 90 ml d'eau physiologique, préchauffée à environ 45°C, en laissant les grosses particules se déposer, ce qui forme la solution mère (10^{-1}) (J.O.R.A , 1998). Une série de dilutions décimales est réalisée en prélevant 1 ml de la solution mère dans 9 ml d'eau physiologique, ce qui constitue la dilution 10^{-2} , puis après homogénéisation de cette dernière, la même opération est répétée pour l'obtention de dilutions successives afin de préparer le nombre de dilutions décimales approprié pour le dénombrement de chaque flore (J.O.R.A , 1998). Deux exemples de fromages industriels (un fromage à pâte molle et un fromage frais) sont illustrés sur la figure 02.

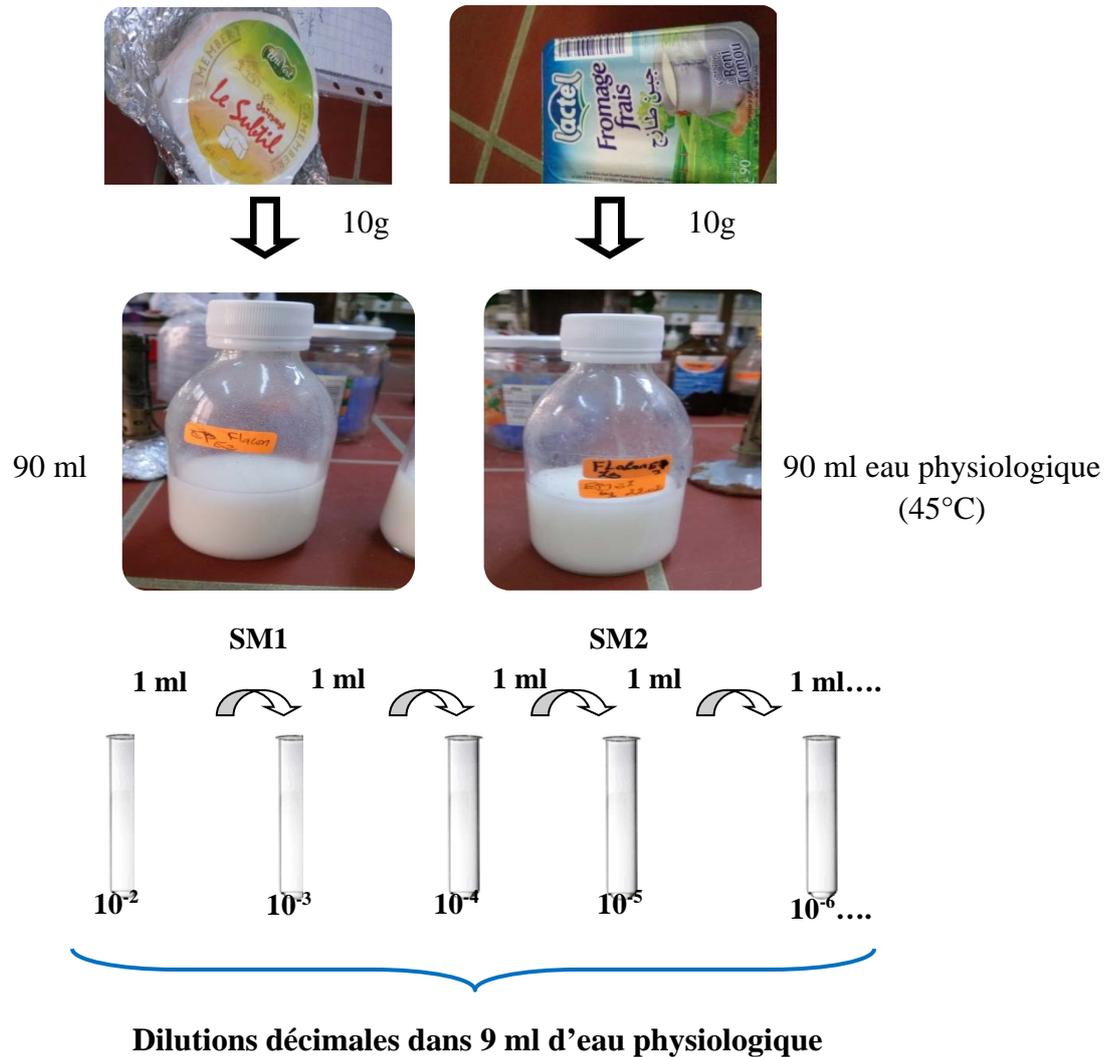


Figure 02. Préparation de la solution mère et des dilutions décimales pour l'analyse microbiologique du fromage

– Dénombrement de la flore totale

Ce dénombrement s'effectue sur tout les types de fromages, ensemencement de 1 ml en masse de la solution mère (SM, 10^{-1}) et des dilutions (10^{-2} et 10^{-3}) dans des boites de gélose PCA (Plate Count Agar, Liofilchem, Italie), incubation à 30°C/24-72 h (Etuve Incucell, Allemagne) suivant la méthode de **Guiraud (1998)**.

– **Dénombrement des coliformes totaux**

Ce dénombrement s'effectue sur tous les types de fromages, ensemencement en masse de 1 ml de la solution mère dans des boîtes de gélose VRBL (gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre ; Conda, Espagne) suivi d'une incubation à 37°C/24-48h (**ISO 5541, 1986**).

– **Dénombrement des coliformes fécaux**

Ensemencement en masse dans de la gélose VRBL (Conda, Espagne) de 1 ml de la solution mère, puis incubation (étuve Memmert, Allemagne) à 44°C/24-48 h (**NF V08-060, 2009**).

– **Dénombrement de *Staphylococcus aureus***

Un volume de 1 ml de la solution mère est ensemencé en masse dans des boîtes de gélose Baird Parker (Liofilchem, Italie) lesquelles sont incubées (étuve Incucell, Allemagne) à 37°C/24-48 h. Le milieu est préparé en ajoutant 12,5ml de jaune d'œuf stérile et une ampoule de téllurite de potassium (Sigma-Aldrich, Allemagne)/ flacon de 250 ml de gélose de base en surfusion (45°C) (**ISO 6888-1, 1990**).

– **Recherche et dénombrement des entérocoques**

En absence de normes relative à la recherche ou au dénombrement des entérocoques dans le fromage, deux méthodes sont appliquées : la première consiste en un repiquage de 1 ml de la solution mère (10^{-1}) dans 9 ml de bouillon Roth (Institut Pasteur d'Algérie) et incubation à 37°C/24-48 h, puis ensemencement en surface sur gélose Slanetz-Bartly (Fluka, France) et incubation à 37°C/24-48 h. La deuxième est réalisée en ensemencant en masse 1 ml de la solution mère (10^{-1}) dans 15 ml de gélose Slanetz-Bartly et incubation à 37°C /24-48 h (**Guiraud, 1998**).

– **Dénombrement de la flore lactique**

Ensemencement en masse de 1 ml des dilutions 10^{-6} et 10^{-7} dans deux boîtes de gélose MRS (de Man Rogosa et Sharpe, Institut Pasteur d'Algérie) et incubation à 30°C/24-72h (**Guiraud, 1998**).

– Recherche de salmonelles

Un pré enrichissement sur milieu eau peptonée exempte d'Indole (Institut Pasteur d'Algérie) est réalisé en portant 25g de fromage dans 225 ml du milieu et incubation à 37°C/24 h, suivi d'un enrichissement en repiquant 1 ml du milieu de pré-enrichissement (trouble) dans 9 ml de bouillon au sélinite de sodium (SFB, Institut Pasteur, d'Algérie) stérile et incubation à 37°C /24 h. Enfin, un isolement en stries est effectué à la surface de la gélose Hektoen (Liofilchem, Italie) avec incubation à 37°C/24-48 h (J.O.R.A., 2005).

Tableau III. Analyse microbiologique des fromages industriels (d'après J.O.R.A., 1998 ; Guiraud, 2003)

Flore dénombrée ou recherchée	Fromage frais	Fromage à pâte molle	Fromage fondu
Flore totale mésophile	$10^{-2}, 10^{-3}$	$10^{-2}, 10^{-3}$	$10^{-2}, 10^{-3}$
Coliformes totaux	10^{-1}	10^{-2}	10^{-1}
Coliformes fécaux	10^{-1}	10^{-1}	10^{-1}
<i>S. aureus</i>	10^{-1}	10^{-2}	10^{-1}
Flore lactique	$10^{-6}, 10^{-7}$	$10^{-6}, 10^{-7}$	$10^{-6}, 10^{-7}$
Entérocoques	10^{-1}	10^{-1}	10^{-1}
Recherche des salmonelles	25g	25g	25g

I. 1. 4. Identification des différentes flores

– Identification des coliformes fécaux

Revivification

Les cellules provenant d'une colonie bien isolée sur gélose VRBL (44°C) sont repiquées dans 5 ml de bouillon nutritif (BN) et incubées à 37°C/24 h.

Isolement

A partir de BN positif, un isolement en stries est réalisé sur gélose EMB (gélose éosine bleu de méthylène ; Liofilchem, Italie) suivi d'une incubation à 44°C/24-48 h (Guiraud et Rosec, 2004).

Identification

Cinq colonies caractéristiques ayant poussé sur gélose EMB sont identifiées, individuellement, par des tests rapides pour vérifier leur appartenance au groupe des coliformes fécaux (coloration de Gram et test de la recherche de la catalase, production de gaz à partir de lactose et production d'indole à 44°C).

➤ **Test de recherche de la catalase**

Une colonie est étalée sur une goutte d'eau déposée sur une lame, puis quelques gouttes d' H_2O_2 (Biochem, Canada) versées sur elle. La présence d'une catalase se traduit par l'apparition d'une effervescence due à l'hydrolyse du H_2O_2 en H_2O et O_2 (**Guiraud, 1998**).

➤ **Production de gaz et d'indole**

Les colonies caractéristiques sont repiquées dans 10 ml de bouillon Shubert (Institut Pasteur d'Algérie) avec cloche de Durham et incubées à $44^\circ C/24$ h. Ce test permet l'identification des coliformes fécaux (*Escherichia coli*) en se basant sur leur capacité à produire du gaz (1/3 de la cloche) et de l'indole. Ce dernier est mis en évidence en ajoutant 2 à 3 gouttes de réactif de Kovacs dans les tubes positifs (trouble+ gaz), est apparait sous forme d'un anneau rouge (**Tesone et Quevedo, 1978**).

– **Identification des entérocoques**

Revivification

Les colonies caractéristiques ayant poussé dans la gélose Slanetz-Bartly (Biokar, France) ($37^\circ C$) sont repiquées dans 5 ml de bouillon nutritif (Institut Pasteur d'Algérie) et incubées à $37^\circ C/24$ h.

Isolement

A partir de tubes de BN positifs (trouble), un ensemencement par stries à la surface de gélose Slanetz-Bartly est effectué avec incubation à $37^\circ C/24-48$ h (**Guiraud et Rosec, 2004**).

Identification

Cinq colonies caractéristiques ayant poussé sur gélose Slanetz-Bartly sont identifiées par des tests rapides pour vérifier leur appartenance au groupe des entérocoques (coloration de Gram et test de la recherche de la catalase, croissance en conditions hostiles dans du bouillon EVA-Litzky à $44^\circ C$) (**Guiraud et Rosec, 2004**).

Les colonies sont repiquées individuellement dans 5 ml de bouillon EVA-Litsky (Conda, Espagne) et incubées à $44^\circ C/24$ h, l'apparition d'un trouble et d'une pastille violette confirme la présence d'*Enterococcus* (**Guiraud et Rosec, 2004**).

– Identification de *Staphylococcus aureus*

Revivification

Les colonies caractéristiques ayant poussé dans la gélose Baird Parker (37°C) sont repiquées individuellement dans 5 ml de bouillon nutritif et incubées à 37°C/24 h.

Isolement

A partir de tubes de BN positifs, un ensemencement en stries à la surface de la gélose Baird Parker (Liofilchem, Italie) préparé tel que décrit en I.1.3, est réalisé avec une incubation à 37°C/24-48 h.

Identification

En se basant sur l'aspect colonial sur gélose Baird Parker, cinq colonies caractéristiques sont identifiées (coloration de Gram, tests de recherche de la catalase et de la coagulase) (Federighi, 2005).

➤ Test de recherche de la coagulase

Le test de recherche de la coagulase est réalisé après repiquage dans 3 ml de bouillon coeur-cerveau BHI (Brain Heart Infusion; Conda, Espagne) et incubation à 37°C /24 h. A partir du bouillon positif, 0,5 ml sont mélangés avec 0,5 ml de plasma humain (Centre de transfusion sanguine, Bejaia). Le mélange est incubé à 37°C et la lecture est effectuée après 2,4, 6 et 18h (ISO 6888-1, 1990).

– Identification de la flore lactique

Revivification

Les cellules issus de colonies bien isolées sur gélose MRS (30°C) sont repiquées dans 5 ml de bouillon MRS (Biochem, Canada) et incubées à 30°C/24 h.

Isolement

A partir de bouillon MRS positif, un isolement en stries est réalisé sur gélose MRS suivi d'une incubation à 30°C/48-72 h (Federighi, 2005).

Identification

Une coloration de Gram et un test de catalase sont réalisés, pour la distinction de la forme et du Gram ainsi que de l'assemblage des cellules.

✓ **Remarque**

La composition des différents milieux de culture est donnée en annexe II.

II. Fabrication d'un fromage artisanal

II. 1. Analyse microbiologique du lait cru

Un litre de lait cru frais est acheté d'un point de vente (Ihaddadene, Béjaia) et transporté rapidement au laboratoire puis conservé au réfrigérateur jusqu'à utilisation (2 h). La figure 03 ci-dessous résume l'analyse microbiologique du lait cru.

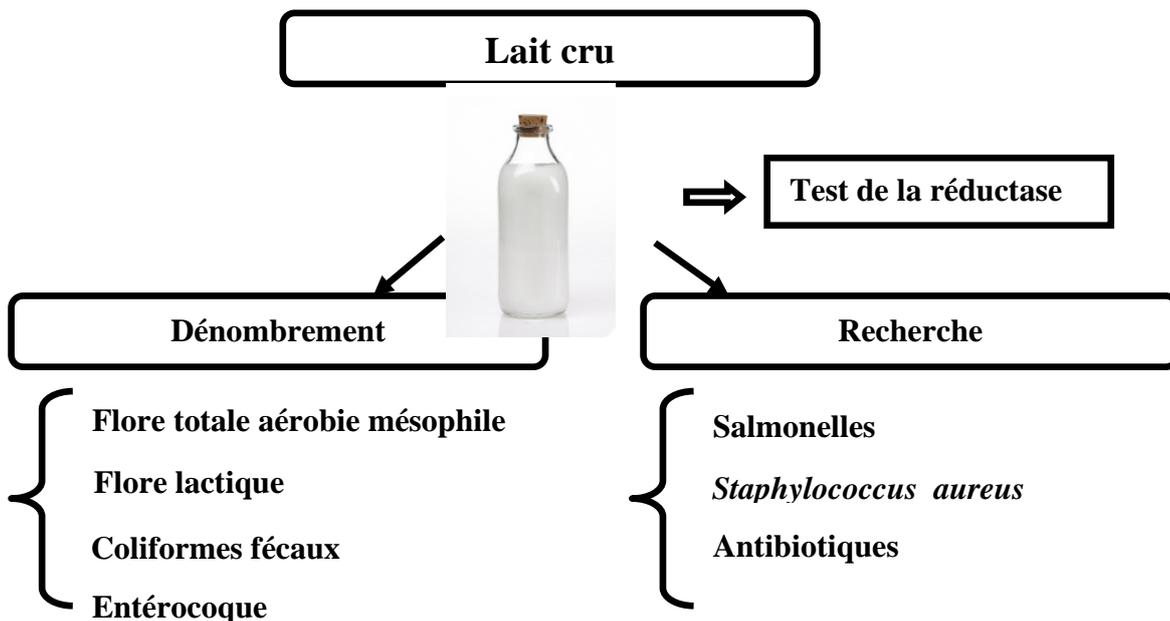


Figure 03. Analyse microbiologique du lait cru

II. 2. Description des différentes analyses microbiologiques

– Estimation de la qualité hygiénique du lait cru

Ce test est réalisé par addition de 1 ml d'une solution de bleu de méthylène (0,5 %) stérile dans un tube à essai contenant 10 ml de lait. Après agitation, le tube est incubé dans une étuve à 37°C. Une observation est effectuée au bout d'une heure 30 min et de 3 h (Guiraud, 1998).

– Préparation de la solution mère et des dilutions décimales

Dés l'arrivé du lait au laboratoire, une mesure de pH est réalisée (pH mètre Boeco, Allemagne) afin de vérifier sa fraîcheur. Un aliquote de 5 ml de lait cru est prélevé et constitue la solution mère (10^0) et une série de dilutions décimales est réalisée comme décrit en I.1.3.

– **Dénombrement de la flore totale aérobie à 30°C**

Prélèvement de 1 ml de la dilution 10^{-4} et ensemencement en masse dans une boîte de gélose PCA et incubation à 30°C/72 h (Carafa et al., 2015).

– **Dénombrement des coliformes fécaux**

Ensemencement en masse de 1 ml de lait prélevé de la dilution 10^{-2} dans une boîte de gélose VRBL et incubation à 44°C/48 h.

– **Dénombrement de la flore lactique**

Ensemencement en masse de 1 ml de la dilution 10^{-4} dans de la gélose MRS et incubation à 30°C/72 h (NF ISO 15214, 1998).

– **Recherche des entérocoques**

En absence de normes relatives au dénombrement des entérocoques dans le lait cru, à partir de la solution mère, 0,1 ml est prélevé puis étalé à la surface de la gélose Slanetz-Bartly puis incubé à 37°C/ 48 h. Les colonies caractéristiques sur gélose Slanetz sont ensemencées dans 5 ml de bouillon EVA- Litsky et incubées à une température de 44°C/24 h pour favoriser la croissance d'*Enterococcus*, un test de catalase et une coloration de Gram sont effectués en parallèle.

– **Recherche de *Staphylococcus aureus***

Enrichissement

Vu l'indisponibilité du milieu de Giolliti- Cantani, l'enrichissement de *S. aureus* est effectué dans 5 ml de bouillon nutritif additionné de 7,5 % de NaCl en prélevant 0,5 ml de la solution mère et en incubant à 37°C/24 h.

Isolement

Ensemencement en masse de 1 ml de BN salé dans de la gélose de Baird Parker, préparée tel que décrit plus haut, et incubation à 37°C/48 h.

Identification

Une coloration de Gram et un test de recherche de la catalase, suivis d'un test de recherche de la coagulase sont par la suite réalisés comme décrit précédemment.

– Recherche de salmonelles

Pré enrichissement

Une quantité de 25 ml de lait est inoculée dans 225 ml d'eau peptonée exempte d'Indole et incubée à 37°C/24 h

Enrichissement

Repiquage de 1ml des tubes d'eau peptonée positifs dans 9 ml de bouillon au sélénite de sodium (SFB) et incubation à 37°C/24 h.

Isolement

Ensemencement en stries à la surface de la gélose Hektoen (Liofilchem, Italie) à partir du milieu SFB positif et incubation à 37°C/48 h (**J.O.R.A., 2005**).

– Recherche d'antibiotiques

Un aliquote de 5 ml de lait est incubé à 30°C/24 h, l'absence d'antibiotiques se manifeste par une croissance microbienne et formation d'un caillé.

– Confirmation des flores

Des tests confirmatifs des différentes flores (coliformes fécaux et flore lactique) sont réalisés tel que décrits en I.1.4

II. 3. Protocol de fabrication du fromage artisanal

Les différentes étapes de la fabrication fromagère sont illustrées sur la figure 04 et les différentes analyses effectuées sont regroupées dans le tableau IV.

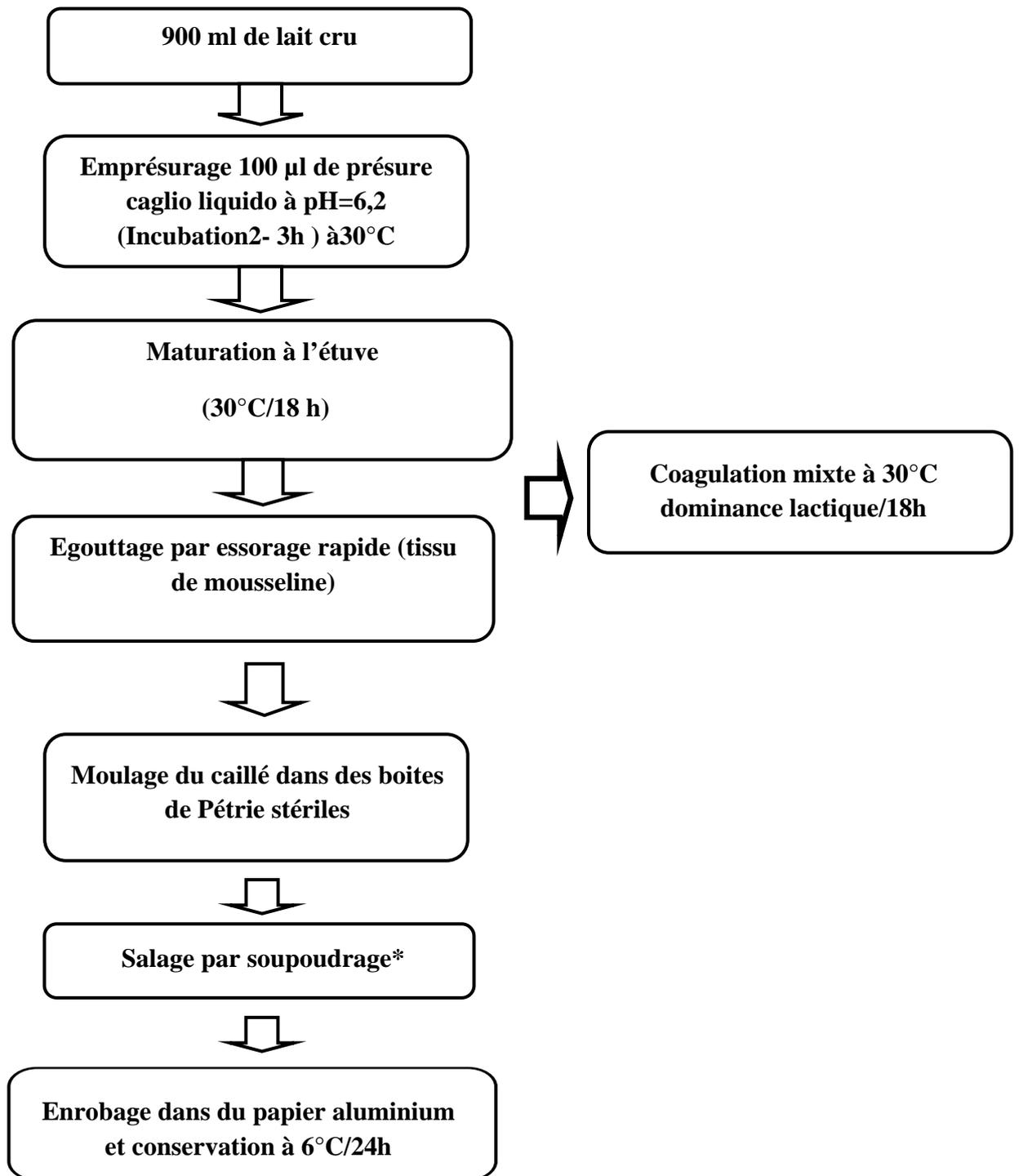


Figure 04. Diagramme de fabrication du fromage artisanal au laboratoire * Deux types de fromage sont fabriqués, un salé et un sans salage.

Tableau IV. Analyse microbiologique du fromage artisanal

Flore dénombrée ou recherchée	Dilution	Fromage artisanal non salé après fabrication	Dilution	Fromage artisanal non salé (6°C/ 24 h)	Dilution	Fromage artisanal salé (6°C/24 h)
Flore totale mésophile	10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁸	+	10 ⁻⁸	+	10 ⁻⁸	+
Coliformes totaux	10 ⁻¹ ,10 ⁻³	+	10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶	+	10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶	+
Coliformes fécaux	10 ⁻¹ ,10 ⁻³	+	10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶	+	10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶	+
<i>S. aureus</i>	10 ⁻¹ ,10 ⁻²	+	10 ⁻⁴ ,10 ⁻⁵	+	10 ⁻⁴ ,10 ⁻⁵	+
Flore lactique	10 ⁻⁴ ,10 ⁻⁶	+	10 ⁻³ ,10 ⁻⁵	+	10 ⁻³ ,10 ⁻⁵	+
Entérocoques	10 ⁻¹	+	10 ⁻³ ,10 ⁻⁴	+	10 ⁻³ ,10 ⁻⁴	+
Recherche des salmonelles	10 ⁻¹	+	/	/	/	/

+ : Flore déterminée, / : Flore non recherchée

Les différentes analyses sont effectuées tel que décrit pour les fromages industriels. Cependant, vu l'utilisation d'un lait cru dans sa fabrication, des dilutions décimales plus poussées sont réalisées (tableau IV).

Résultats et discussion

I. Analyse microbiologique des fromages industriels et du fromage artisanal

I. 1. Fromages frais

Six échantillons de fromages frais « Lactel », « Danino nature sucré », « Danino aux fruits », « Tassili » et « Soummam » ont été analysés au cours de cette étude. Les résultats de leur analyse sont présentés dans la figure 5.

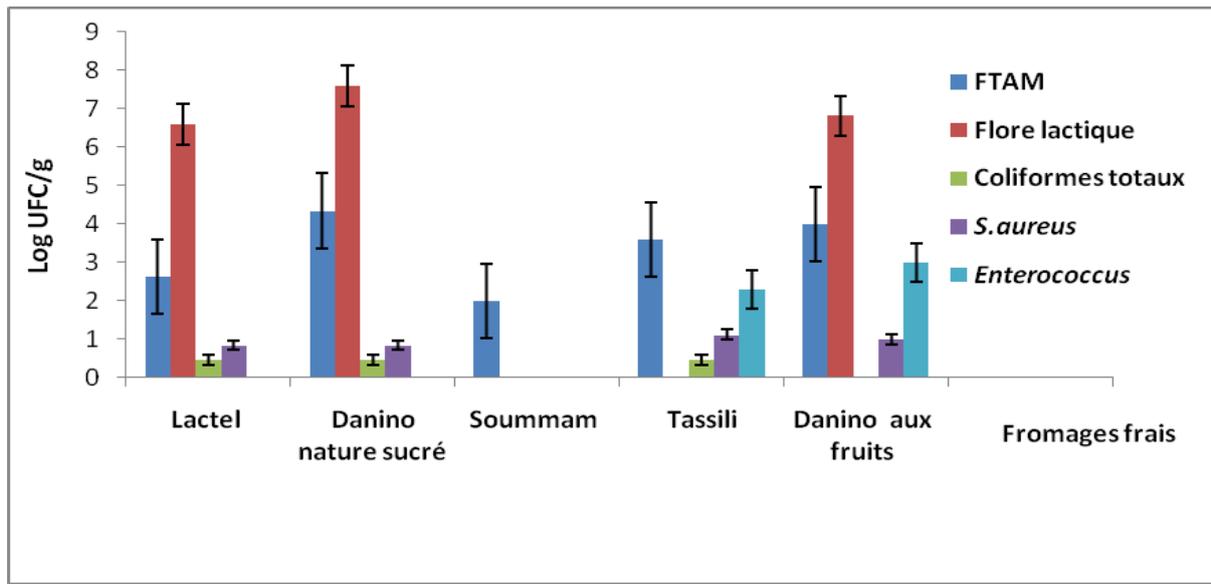


Figure 05. Résultats de l'analyse microbiologique des fromages frais (FTAM : Flore totale mésophile aérobie)

• Flore totale mésophile aérobie

Les résultats de l'analyse microbiologique des fromages frais industriels (figure 05) montrent une charge bactérienne faible allant de 10^2 UFC/g (fromage Soummam) à $2,2 \cdot 10^4$ UFC/g (fromage Danino nature sucré), ce qui témoigne d'une bonne qualité microbiologique des différents fromages analysés. En se rapportant au diagramme général de fabrication des fromages frais (figure 05, annexe I) et à celui du fromage « Danino » (figure 06, annexe I), ceci serait le résultat, d'une part, du traitement thermique appliqué généralement au lait ($95^\circ\text{C}/1-5$ min) utilisé dans la fabrication des fromages frais (Jeantet et al., 2008), d'autre part, l'ajout de la crème sucrée pasteurisée ($90^\circ\text{C}/10\text{s}$) au préalable (purée sucrée), réduit les bactéries pathogènes (difficulté de croître dans de tels produits) (Verraes et al., 2015).

Cette estimation de la qualité microbiologique des fromages frais, en se basant sur le taux de la flore totale, reste subjective étant donné l'absence de normes Algériennes relatives à ce paramètre (taux de la flore totale).

Résultats et discussion

Deux des fromages analysés « Soummam » et « Lactel » ont montré une charge très faible ($\approx 10^2$ UFC/g) témoignant de leur état de fraîcheur. Au cours des traitements technologiques, le brassage et la pasteurisation de la crème ajoutée réduisent la flore microbienne du produit par l'action de la force mécanique et du traitement thermique (**Jeantet et al., 2008**). Les fromages frais présentent une grande humidité (70-80 %), l'activité de l'eau influe largement sur la survie de la flore microbienne et fait de ce type de fromage un produit très périssable avec une durée de conservation limitée (24 jours après la date de fabrication). Cependant, deux facteurs intrinsèques tels que le pH acide et la présence de composés antimicrobiens générés par les ferments utilisés peuvent avoir des effets inhibiteurs dans le fromage (**Lenovich, 1987**).

Le taux relativement élevé de la flore totale (10^4 - $2,2 \cdot 10^4$ UFC/g) au niveau des fromages « Danino nature sucré » et « Danino aux fruits » serait dû aux conditions de transport de l'industrie vers les entrepôts, ou de ceux-ci vers le commerce, aux mauvaises conditions de conservation au niveau des entrepôts et des points de vente, ou bien au lait cru de départ. Le refroidissement du lait à la ferme permet une collecte collective tous les 2 à 3 jours mais ce mode de ramassage permet le mélange de différents laits issus de fermes différentes. Dans ce cas, un risque de contamination des laits de bonne qualité par un lait de classe inférieure est important (**Pougheon et Goursaud, 2001**).

La plupart des fromages analysés, à l'exception du « Danino », sont tous fabriqués à partir de laits reconstitués, écrémés et pasteurisés avec addition de crème fraîche préalablement pasteurisée, même si on y fait pas mention, alors que dans les autres pays cette mention est obligatoire (Suisse) dans l'étiquetage. Le traitement thermique élimine la plupart des microorganismes, comme en témoigne le dénombrement de la flore totale. Par contre, l'utilisation de lait cru augmente le risque d'avoir des fromages insalubres. En effet, l'analyse de 71 échantillons de fromages frais au lait cru fabriqués à l'étranger a révélé des taux non conformes aux normes d'hygiène (**Pfenninger et al., 2015**).

• Coliformes

Une absence de coliformes totaux et fécaux a été enregistrée dans les fromages « Soummam » et « Danino aux fruits » tandis qu'une présence de coliformes totaux à des taux de 3 UFC/g a été notée dans les fromages « Lactel », « Danino nature sucré » et « Tassili ». Ceci est inférieur aux normes Algériennes (tableau IV, annexe I) relatives au fromage frais (sans spécifications particulières) qui tolèrent un taux de 10 UFC/g pour les coliformes totaux et 1 UFC/g pour les coliformes fécaux (J.O.R.A., 1998). Cependant dans les normes Européennes (tableau VI, annexe I), le type de lait ou le type de matière première (lactosérum) utilisé dans la fabrication du fromage frais est mentionné (ex. fromage au lait cru, au lait thermisé) et les normes diffèrent selon ces spécifications. Pour les coliformes fécaux (*E. coli*), ces normes préconisent pour le fromage frais au lait thermisé 100 UFC/g (Fédération des entreprises du commerce et de la distribution, 2015) et le nombre maximal autorisé est de 10^3 UFC/g (Ministère de la santé du Luxembourg, 2015). Par contre, les normes Françaises (tableau V, annexe I) autorisent 10 coliformes et 1 coliforme fécal/g de fromage frais pasteurisé (Arilait, 1991).

Tous les fromages analysés présentent une bonne qualité hygiénique, qui serait le résultat du traitement thermique subit (pasteurisation à 95°C/1-5 min) et l'addition d'agents conservateurs : sorbate de potassium (antioxydant et stabilisant) et d'autres additifs alimentaires : acide citrique (régulateur d'acidité, antioxydant, séquestrant), citrate de tri-calcium (régulateur d'acidité, affermissant et séquestrant) et phosphate de di-amidon hydroxypropylé. Lorsque le lait est pasteurisé, la microflore sensible à la chaleur est considérablement réduite. La présence d'*E. coli* dans du lait pasteurisé, signifie qu'il s'agit d'une post-contamination. Une des principales sources de contamination du lait à la laiterie pourrait être la canalisation de sortie du lait d'un pasteurisateur, si celle-ci n'est pas propre (Moullec, 2002).

De même l'absence de coliformes fécaux serait la conséquence du fait qu'*E. coli* présente dans le lait utilisé dans la fabrication fromagère devient piégée et concentrée dans le caillé et croît au cours de la fermentation. La plupart se multiplie dans les premières 7 - 10 h de la fabrication du fromage avant que les valeurs de pH inhibitrices soient atteintes, la réduction de la croissance se prolonge avec l'addition de sel de table (Condron et al., 2009).

De plus, des coliformes ont été trouvés à des concentrations de 1,3–1,7 log UFC/ml dans du lait cru. Après écrémage, une réduction de 0,4–0,9 log UFC/ml a été observée. De plus, la crème issue du lait non réfrigéré montre un niveau de contamination en coliformes significativement supérieur par rapport à la crème issue de lait réfrigéré (**Franciosi et al., 2010**). L'écrémage du lait réduit le taux des coliformes et la crème sucrée utilisée dans le cas du « Danino nature sucrée » rend le milieu défavorable à leur croissance, du fait qu'elle prive les microorganismes de l'eau par son pouvoir hygroscopique. En effet, chaque molécule de sucre est capable de fixer plusieurs molécules d'eau, une fois dissous, le sucre se lie aux molécules d'eau et les rend ainsi indisponibles au développement des micro-organismes, ce qui diminue considérablement le taux des coliformes. Le stade de prélèvement pour analyse influe sur la qualité du produit, les fromages dans les unités de fabrication sont de meilleure qualité que ceux prélevés dans les circuits de vente, cette supériorité en qualité concerne surtout les coliformes thermotolérants (**Vivegnis et al., 1998**).

• *Staphylococcus aureus*

Tous les fromages analysés, à l'exception du fromage « Tassili », sont conformes aux normes Algériennes (tableau IV, annexe I) relatives à *S. aureus* (0-10 UFC/g). Toutefois, un taux de 13 UFC/g a été enregistré dans le cas du fromage « Tassili ». Cette bactérie pourrait provenir du lait en vrac utilisé (mammite staphylococcique clinique ou sub-clinique, ou par contamination par les muqueuses et la peau de l'animal) (**Aggad et al., 2009**).

Toutes les normes tolèrent un taux de *S. aureus* de 10 UFC/g et celles du Luxembourg tolèrent jusqu'à 10⁴ UFC/g. Toutefois aucune norme ne tolère un taux supérieur à 10⁵ UFC/g, car à cette valeur certaines souches de *S. aureus* peuvent produire des entérotoxines (toxines urémiques et thermostables) responsables d'intoxications alimentaires graves. L'identification a montré qu'aucun fromage frais analysé courant de cette étude ne renferme de souches à coagulase positive (**Kousta et al., 2009**).

L'emballage plastique sur certains fromages les empêche de se dessécher et d'être contaminés avec des agents pathogènes. Le vide créé et l'anaérobiose engendrée par certains emballages constituent une barrière physique contre les champignons et les micro-organismes aérobies strictes (**Verraes et al., 2015**).

La législation française stipule que seuls les fromages frais industriels ne peuvent être fabriqués avec du lait cru, ce qui impose la pasteurisation. Les normes Françaises selon l'arrêté du 21 décembre 1979 pour le fromage frais pasteurisé, exigent des taux inférieurs à 10/g afin de maintenir et d'éviter toute re-contamination (**Luquet, 1985 ; Luquet, 1990**).

S. aureus a été identifié comme risque microbiologique dans la crème, quoique, son potentiel de croissance soit réduit dans ce type de produit (**Verraes et al., 2015**). Selon le procès de fabrication cette crème est pasteurisée au préalable, le lait et la crème utilisés dans la fabrication du fromage frais doivent être pasteurisés (**Luquet, 1985**).

La réduction du taux de *S. aureus* dans le fromage frais serait due à l'acidification du caillé qui permet un développement limité (**Villeneuve, 2007**) ainsi qu'à la compétition nutritionnelle. Il a été rapporté que la croissance et l'activité acidifiante de *Lactococcus lactis* dans le fromage exercent un effet antagoniste à l'égard de *S. aureus* (10^6 UFC/g) (**Duquenne, 2010**).

• Entérocoques

La présence d'entérocoques a été enregistrée au niveau des fromages frais « Tassili » ($2 \cdot 10^2$ UFC/g) et « Danino aux fruits » (10^3 UFC/g). Les taux retrouvés ne sont pas très élevés car les fromages frais renferment des taux de l'ordre de 10^4 - 10^6 UFC/g et ces taux sont tolérables, les entérocoques font partie de la flore lactique et présentent des propriétés technologiques importantes telles que l'amélioration des caractéristiques organoleptiques, de la sécurité et de la stabilité des aliments ainsi qu'une prolongation de sa durée de conservation lors du stockage. C'est une flore ubiquiste qui s'adapte à différents environnements et procédés, pouvant synthétiser des entérocoques (bactériocines), une alternative dans la bioconservation des aliments capables d'inhiber *L. monocytogenes* et *Staphylococcus* spp. (**Galvez et al., 2012**).

• Flore lactique

Le taux de la flore lactique était de $4 \cdot 10^6$ UFC/g (Lactel), $6,75 \cdot 10^6$ UFC/g (Danino aux fruits) et de $4 \cdot 10^7$ UFC/g (Danino nature sucré). Cependant, dans les fromages frais « Soummam » et « Tassili », l'absence de cette flore a été constatée. L'absence de la flore lactique serait due à l'augmentation de l'acidité (phénomène de post-acidification), soit aux conditions de réfrigération ($<6^\circ\text{C}$) ou aux ruptures de la chaîne de froid.

Les mêmes résultats ont été obtenus dans une étude antérieure effectuée par **Djafri et Djaout (2015)**, en dénombrant la flore lactique acidophile du fromage « Soummam ». Il est bien établi que la flore acidophile est celle qui varie le moins (19-30 %) dans la FTAM et une utilisation de ferments acido-sensibles conduit à leur élimination dans le produit (**Michel et al., 2001**).

Aucune réglementation ne préconise une charge de flore lactique spécifique aux fromages frais, la perte de viabilité de la flore lactique au cours de la réfrigération est généralement réduite (**Ray, 1996**).

I. 2. Fromages fondus

Les fromages fondus de marques « Président Alvita », « Ramdy », « Petit marin » et « Quisto » ont fait l'objet d'une analyse microbiologique au cours de cette étude. Les résultats obtenus sont présentés sur la figure 06.

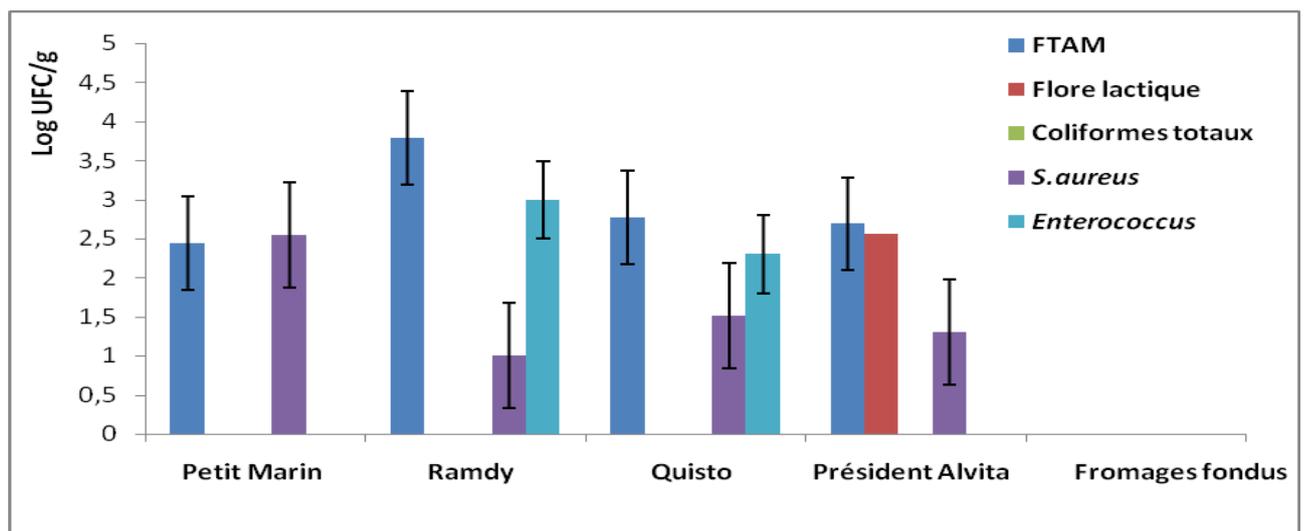


Figure 06. Résultats de l'analyse microbiologique des fromages fondus (FTAM : Flore totale aérobie mésophile)

•FTAM

Des taux de FTAM comparables, à des valeurs allant de $2,8 \cdot 10^2$ UFC/g (Petit marin) à $6,3 \cdot 10^2$ UFC/g (Ramdy), ont été notés entre les différents fromages analysés et ce en dépit du traitement thermique ($90^\circ\text{C}/10-15$ min) et de la présence de sels de fontes (20000 mg/kg). Etant donné que seules les bactéries sporulées peuvent y survivre, les fromages pourraient être re-contaminés lors du conditionnement ou après conditionnement (défaut de l'étanchéité de l'emballage) (**Beerens et Luquet, 1987**).

Cependant, le taux de la flore totale diffère d'un fromage à un autre et ceci serait dû aux différentes conditions de fabrication, leur composition, et la qualité de la matière première utilisée. De plus, au niveau du fromage « Ramdy » et suivant son diagramme de fabrication un traitement thermique de 90°C/10-15 min est appliqué (figure 01, annexe I).

L'ajout aux fromages « Ramdy » et « Petit Marin » de sel de table limite la croissance microbienne. Le « Quisto » contient de l'amidon; ce dernier pourrait être une source de carbone pour la croissance microbienne. De même, le fromage « Président Alvita » contient du lait frais pasteurisé, source potentielle de contamination microbienne.

Aucune norme microbiologique n'est disponible en ce qui concerne les fromages fondus, ce qui constitue un obstacle pour l'évaluation de leur qualité sanitaire et hygiénique.

• Coliformes

Concernant les coliformes totaux, tous les fromages analysés en sont indemnes, ce qui indique leur bonne qualité hygiénique, conséquence de bonnes pratiques de fabrication (BPF) et d'hygiène (BPH). De plus, ce type de fromage subit une cuisson de 90°C/10-15 min (Ramdy), un traitement thermique permettant la fonte des sels ajoutés et l'élimination de la majorité de la flore contaminante dont les coliformes.

Certains fromages renferment des microorganismes sporulés, qui ne deviennent sous forme végétative qu'à une température de 140°C (choc thermique) et dans ce cas une pasteurisation est obligatoire pour leur destruction après cuisson (**Ledenbach et Marshall, 2009**). En examinant les diagrammes de fabrication des différents types de fromages fondus analysés, aucune pasteurisation n'est appliquée après cuisson sauf pour le « Petit Marin » où un traitement à une ultra haute température (UHT) est réalisé.

Les pré- traitements des fromages utilisés dans la fabrication (ajout de poudre de lait, matière grasse, protéines de lait, additifs alimentaires et ferments) permettent d'améliorer leurs textures et d'autres propriétés fonctionnelles (la fonte) (**Kelly et al., 2008**).

L'enrichissement en protéines de lactosérum augmente la chaleur du traitement. Les ferments lactiques rajoutés, cas du fromage « Président Alvita », pourraient avoir un rôle antagoniste vis-à-vis des flores pathogènes et/ou d'altération (acidité, bactériocines). La matière grasse rajoutée permet d'accélérer la libération de composés aromatiques volatiles (acides gras à courte chaîne) pouvant également avoir un effet inhibiteur. Le sel rajouté peut aussi contribué à limiter la croissance bactérienne. Les coliformes ne survivent pas aux mauvaises conditions environnementales (**Kelly et al., 2008 ; Guiraud et Rosec, 2004**).

Le sel réduit l'humidité, favorise l'égouttage (pression osmotique) et réduit l'Aw et ralentie les bactéries sensibles au sel, une teneur en NaCl supérieure à 1,78-2 % diminue l'étalement à la fonte (**Thibaudaux, 2011**).

• *Staphylococcus aureus*

Le taux de *S. aureus* dans les fromages fondus analysés était comme suit : fromage « Petit marin » $3,6 \cdot 10^2$ UFC/g, « Quisto » 33 UFC/g, « Président Alvita » 20 UFC/g et « Ramdy » 10 UFC/g. Les taux enregistrés dans le « Petit Marin », « Quisto » et « Président Alvita » dépassent les normes Algériennes (10 UFC/g).

L'identification a confirmé la présence de cette espèce (coagulase +) et sa présence pourrait être due à la matière première. La présence de sel de table dans les fromages « Ramdy » et « Président Alvita » et « Petit marin » favorise la croissance sélective de *S. aureus* du fait de son halo-tolérance. La qualité du fromage dépend de son mode de fabrication et de sa composition. Dans le cas du « Président Alvita », la contamination pourrait être due au lait frais utilisé s'il est trop chargé au départ. Pour les autres fromages, si le rapport sels de fontes/matière première n'est pas adéquat, le fromage se décompose en caséines, eau et graisse, ce qui influe sur la qualité microbiologique du produit fini, l'ajout de l'eau avant, après ou pendant la fonte pourrait être source de cette contamination qui était faible au départ (revivification) (**Miron et al., 2006**).

Le dénombrement de *S. aureus* dans les fromages au lait cru ou à base de lait cru (même ultérieurement pasteurisé) devrait être accompagné systématiquement de la recherche d'entérotoxines si le nombre dépasse 10^5 UFC/g (**Kousta et al., 2009**).

S. aureus est une bactérie mésophile, pouvant croître à 6°C et même tolérée 46°C, c'est une espèce halophile qui tolère des quantités de sel allant de 7 à 20 %. De plus, vu sa croissance à une faible activité en eau ($A_w = 0,83$), sa présence dans les fromages fondus n'est pas étonnante. La pasteurisation du lait réduit la compétition bactérienne, non tolérée par *S. aureus*, ce qui favorise sa multiplication dans le fromage (Arnal, 2003).

• Entérocoques

Le dénombrement des entérocoques dans les fromages fondus a révélé un taux de 27 UFC/g dans le fromage « Petit marin », 10^3 UFC/g dans « Ramdy » et $2 \cdot 10^2$ UFC/g dans « Quisto ». C'est une bactérie résistante aux conditions hostiles (NaCl 6,5 % et traitement à 60°C/30 min) (Gelsomino et al., 2002), ce qui explique sa persistance dans les fromages fondus.

La recherche des entérocoques constitue un test de détection d'une éventuelle contamination fécale ancienne, donc de l'hygiène de l'industrie et du procédé de fabrication. Cependant, ils constituent également des agents pathogènes opportunistes, le plus incriminé étant *En. faecalis*, avec une dose infectante de 10^8 - 10^{10} cellules. Les toxi-infections alimentaires à entérocoques sont rares, dans 5 à 10 % des cas sont souvent dues à *En. faecium* et *En. faecalis* (Guiraud et Rosec, 2004).

Actuellement les normes ne préconisent pas la recherche des entérocoques dans les fromages. La plupart des espèces du genre *Enterococcus* font partie intégrante de la flore intestinale de nombreux animaux, leur concentration dans les matières fécales peut varier de 10^5 à 10^7 UFC/g (Galvez et al., 2012).

• Flore lactique

Seul le fromage fondu « Président Alvita » possède une flore lactique du fait de l'ajout de ferments lactiques pendant la fabrication. La plupart des fromages fondus analysés n'ont pas un grand intérêt du point de vue nutritionnel vu que toute la flore lactique est détruite par la cuisson de départ et l'hygrométrie (40% d'eau) du fromage fondu et ne la laisse pas se développer.

I. 3. Fromages à pâte molle

Au cours de cette étude, deux marques de fromage à pâte molle type « camembert » ont été analysées le « Subtil Univert » et le « Tigre de Mirzana » et l'analyse comporte le dénombrement de la FTAM, flore lactique, coliformes totaux et fécaux, entérocoques, levures et moisissures et de *S. aureus* et une recherche de *Salmonella* spp. La figure 07 illustre les résultats obtenus.

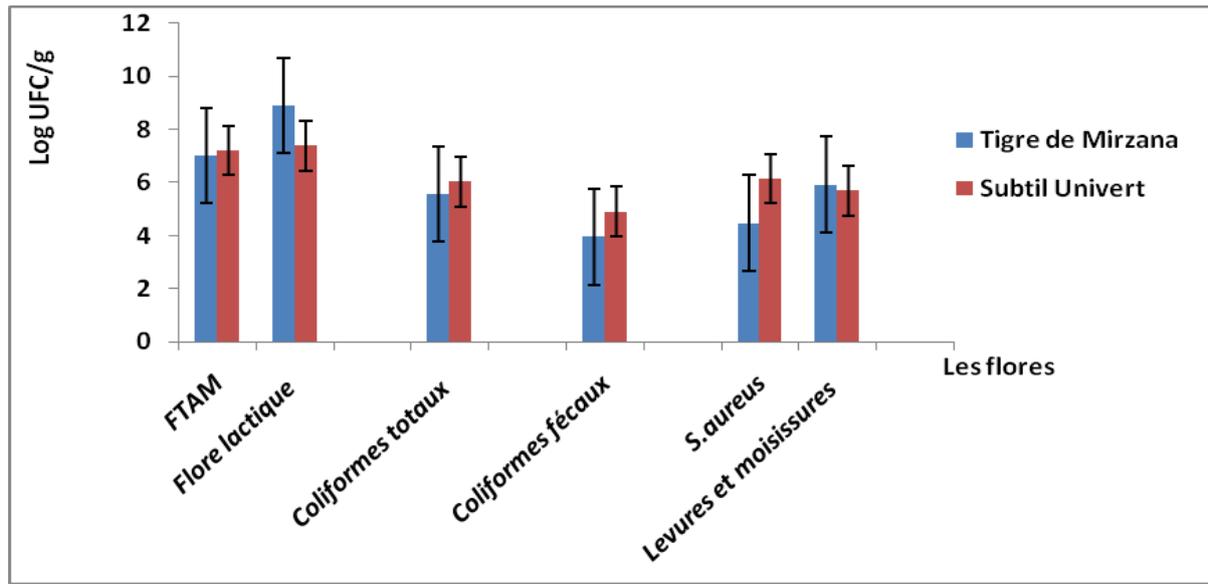


Figure 07: Résultats de l'analyse microbiologique des fromages à pâte molle

•FTAM

Les deux fromages à pâte molle « Tigre de Mirzana » et le « Subtil-Univert », analysés dans cette étude, ont une charge bactérienne totale (FTAM) de 1.10^7 UFC/g et $1,8.10^7$ UFC/g respectivement. La conservation des pâtes molles est difficile car leur consommation doit s'effectuer de préférence avant 45 jours de la date de fabrication. Ceci est lié à leur humidité élevée (50 % d'eau) qui peut être à l'origine de leur altération, ce qui explique le taux élevé de la flore totale. La flore totale d'un fromage à pâte molle peut atteindre au moins 10^8 bactéries /g s'il est fabriqué d'une manière manuelle et en absence d'une réfrigération du lait (Richard et Zadi, 1983).

De plus, certains facteurs tels que le stade de lactation et l'ensilage influent sur la qualité du lait utilisé en fabrication fromagère type « camembert ». En effet, le lait est chargé en cellules microbiennes en début de lactation puis cette charge se réduit vers la fin des 10 derniers mois. De même, l'ensilage peut contenir différentes bactéries lactiques (pédiocoques, lactobacilles, coliformes) qui se transmettent au lait puis au fromage (**Montel et Chatelard-Chauvin, 2014**).

• Coliformes

Le dénombrement des coliformes totaux a montré des charges de $3,8 \cdot 10^5$ UFC/g (fromage « Tigre de Mirzana ») et de $1,1 \cdot 10^6$ UFC/g (fromage « Subtil- Univert »), des valeurs non conformes à la norme Algérienne qui tolère 10^2 UFC/g (**J.O.R.A., 1998**), et aux normes Françaises et Européennes (10^2 UFC/g) (**Arilait, 1991 ; Fédération des entreprises du commerce et de la distribution, 2015**).

Ces taux élevés pourraient être liés aux mauvaises conditions d'hygiène pendant la préparation et la manipulation du produit et indiquent leur multiplication après fabrication (**Tesone et Quevedo, 1978**). Le processus technologique de fabrication est hautement concerné par la contamination par les coliformes. Même si un faible taux de ces derniers est retrouvé dans le lait pasteurisé utilisé, une multiplication importante peut se produire au cours de l'affinage.

En effet, la contamination peut survenir pendant la fabrication, avant que les levains n'acidifient le milieu (destruction des coliformes), et même après celle-ci, le fromage n'est pas complètement assaini des coliformes. L'augmentation du pH au cours de l'affinage contribue à leur développement et leur taux peut atteindre 10^6 et 10^8 UFC/g dans certains cas. Le nombre de coliformes présents dans le lait de départ est fortement lié à leur nombre en cours d'affinage (**Mourgues et al., 1977**).

L'utilisation de lait cru dans le fromage « Tigre de Mirzana » amène sûrement vers une contamination par des coliformes surtout à cause de la thermisation utilisée ($62-65^\circ\text{C}/30\text{s}$) qui ne suffit pas à stériliser le lait de départ si celui-ci est fortement contaminé. Leur nombre augmente pendant la maturation chaude vue la température qui varie entre $33-36^\circ\text{C}/15-90$ min et peut atteindre 45°C en fonction du diagramme de fabrication des industries (Draa Ben-Khedda, Ibarissen) qui utilisent respectivement du lait cru et du lait reconstitué (figure 3 et figure 4 respectivement, annexe I).

Certains types de caillés lavés sont particulièrement sensibles à la croissance des coliformes, la qualité de l'eau utilisée dans ces procédés peut devenir très vite un facteur de contamination (**Ladenbach et Marshall, 2009**).

Dans les fromages « Tigre de Mirzana » et le « Subtil- Univert », la charge en coliformes fécaux a été de $9 \cdot 10^3$ UFC/g et de $8,3 \cdot 10^4$ UFC/g respectivement. Ces taux sont largement supérieurs à celui toléré par le **J.O.R.A (1998)**, qui est de 10 UFC/g, celui dans les normes Françaises (fromage à pâte molle pasteurisé) qui est de 10^2 UFC/g (**Arilait, 1991**) et même celui des normes du Luxembourg (fromage au lait thermisé), qui est de 10^3 UFC/g (**Ministère de la Santé du Luxembourg, 2015**). Il est bien établi que même en partant d'un taux de flore bactérienne très faible dans le lait, les populations de coliformes peuvent atteindre des niveaux très élevés dans les fromages au cours de l'affinage et de la conservation au froid: 10^8 à 10^9 dans le cas d'*Enterobacter hajniae* et 10^6 dans le cas d'*E. coli*. Cette flore a tendance à diminuer plus ou moins rapidement au cours de la conservation des fromages au froid et en général n'est pas retrouvée dans les fromages âgés de plus de 60 jours (**Mourgues et al., 1977**). Le camembert au lait pasteurisé est moins acide que celui au lait cru traditionnel mais ses propriétés de conservation sont meilleures, ce qui lui confère une meilleure conservation (**Gripon, 2006**).

Plusieurs facteurs interviennent dans la contamination du fromage (camembert) par *E. coli* qui ne peut être détectée qu'après 4 à 6 semaines d'affinage. L'acidification, la température de stockage, l'activité acidifiante des microorganismes de départ fait que le nombre d'*E.coli* diminue durant la maturation. (**Letondeur et Lahellec, 2000**).

•*S. aureus*

Le taux de *S. aureus* dans le fromage à pâte molle « Tigre de Mirzana » était de $3 \cdot 10^4$ UFC/g, tandis que dans le « Subtil -Univert », ce taux a atteint $1,4 \cdot 10^6$ UFC/g, la présence de cette espèce a été confirmée lors de l'identification (coagulase +).

La charge de *S. aureus* dans ces fromages dépasse largement les normes Algériennes recommandées pour les pâtes molles (10^2 UFC/g) (**J.O.R.A, 1998**). Par contre, les normes Françaises préconisent une recherche de cette espèce dans le fromage à pâte molle pasteurisé et doit être absente dans 25 g, et par souci d'hygiène du procédé de fabrication *S. aureus* à coagulase + doit être dénombrée (**Joffin et Joffin, 2010**).

La charge élevée de cette espèce pourrait être liée à la qualité du lait utilisé, source principale de contamination par *S. aureus* (excrétée jusqu'à 10^8 dans le lait cru). Au départ le lait pourrait avoir une charge élevée ce qui pourrait expliquer que la charge après pasteurisation soit réduite mais pas éliminée. Dans les fromages à pâte molle, fromage bleu et les fromages à pâte demi-molle, fabriqués avec du lait pasteurisé, la présence de *S. aureus* a été détecté (Kousta et al., 2009).

S. aureus peut être retrouvée au moment de la vente au détail ou au moment de la transformation, si la chaîne de refroidissement a été interrompue à un moment donné. La présence de sel et la température pendant la maturation chaude (33-36°C; pH remonte à 6,5-6,7), favorise la croissance de *S. aureus* (halophile) qui a une température optimale de croissance de 37°C et tolère des quantités faibles d'Aw (0,83) (Moullec, 2002). La présence de *S. aureus* dans le lait pasteurisé avant d'être retrouvé dans le fromage peut être due à une erreur sur le barème de pasteurisation ou sur les mesures de nettoyage (Aggad et al., 2009).

Les microorganismes pathogènes peuvent subsister lors de courtes périodes d'affinage dans les pâtes molles à moisissures internes. La croûte du fromage est la partie la plus contaminée et *S. aureus* à coagulase+ se manifeste par excrétion d'entérotoxines dans le produit mis sur le marché (Vierling, 2008).

•Entérocoques

Aucun entérocoque n'a été retrouvé dans les fromages à pâtes molles analysés.

•Flore lactique

La flore lactique contenue dans les fromages à pâtes molles est très importante avec une proportion de 8.10^8 UFC/g dans le « Tigre de Mirzana » et de $2,5. 10^7$ UFC/g dans le « Subtil- Univert » qui est une charge bénéfique. Cette flore provient de l'inoculation effectuée (1,5-2 % de ferments lactiques ajoutés) pendant la maturation chaude (ferments mésophiles : 33-36°C).

Les ferments utilisés pour la coagulation du lait (production d'acide lactique) contribuent à la qualité rhéologique du fromage. Les ferments mésophiles (*Lactococcus lactis*) ne sont pas utilisés systématiquement. Dans le concentré, à température moyennement basse conservé à -30°C, les bactéries restent intactes pendant de longues durées (pas de réduction de la survie ou de l'activité acidifiante). Le concentré lyophilisé est avantageux dans la conservation et le transport mais présente un inconvénient dans la survie de certaines espèces (Accolas et al., 1980).

Comme l'a déjà observé **Lenoir (1963)**, la flore lactique représente la majeure partie de la flore à Gram positif aussi bien à l'intérieur que sur la croûte des fromages (environ 10^9 UFC/g). Il a été rapporté que le nombre de bactéries lactiques dans la croûte n'était pas significativement différent de celui trouvé dans la masse du fromage (**Richard et Zadi, 1983**).

Aucune norme sur le taux de la flore lactique n'est indiquée, généralement pour qu'un produit soit bénéfique, dont les fromages probiotiques, un taux de 10^8 UFC/g doit être atteint et maintenu jusqu'à la date limite de consommation. Dans le cas des fromages analysés, les taux en flore lactique sont satisfaisants.

•Levures et moisissures

Le taux des levures et moisissures dans les deux fromages analysés était de $8,4 \cdot 10^5$ UFC/g (Tigre de Mirzana) et de $4,9 \cdot 10^5$ UFC/g (Subtile- Univert). Les espèces de *Penicillium* envahissent avec les levures le caillé après égouttage et salage et dès que le sel s'est réparti, les levures envahissent la surface de façon uniforme et *Penicillium candidum* vient se substituer aux levures lorsque ses spores ont germé (**Guittoneau et Keilling, 1939**).

Les levains fongiques du genre *Penicillium* sont responsables de l'amertume lorsque leur croissance n'est pas limitée. L'ensemencement de *Geotrichum candidum* élève le pH de surface et diminue la croissance de la moisissure et celui de la protéolyse (**Vassal et Gripon, 1984**). La microflore du camembert évolue pendant la maturation, le premier jour après la fabrication les levures sont stabilisées en surface tandis que la croissance de *Geotrichum candidum* est limitée par l'apport de sel. Après 9-10 jours, *Penicillium camemberti* aura envahi toute la surface du fromage et en métabolisant l'acide lactique, une augmentation du pH permet aux bactéries sensibles à l'acide de croître en surface (*Micrococcus, Brevibacterium linens, Corynebacterium*) (**Gripon, 2006**).

La contamination par les levures peut s'expliquer par leur présence dans la saumure utilisée. De même, de nombreuses espèces de moisissures sont particulièrement bien adaptées à l'environnement fromager et peuvent être difficiles à éliminer à partir d'une installation de production (**Ledenbach et Marshall, 2009**).

Les normes ne prennent pas en considération le taux de moisissures ou de levures dans les fromages à pâtes molles même si certaines d'entre elles produisent des mycotoxines. Ces dernières pourraient provenir soit des moisissures utilisées dans la fabrication ou des contaminants du fromage. L'aflatoxine M1, issue de la transformation de l'aflatoxine B1, présente dans les aliments de bétail est détectée dans le lait, l'aflatoxine M1 est stable et carcinogène. Cependant, vu que les mycotoxines élaborées par les contaminants sont principalement produites par *Penicillium* et *Aspergillus*, c'est pour cela que seules les souches non productrices de métabolites toxiques sont utilisées (Letondeur et Lahellec, 2000).

I. 4. Fromage artisanal

La fabrication du fromage artisanal a été réalisée au laboratoire en utilisant du lait cru.

I. 4. 1. Analyse du lait cru

Le lait cru, utilisé est un lait frais issu d'un point de vente (Ihaddaden, Béjaia) et transporté rapidement au laboratoire. Un dénombrement de la flore mésophile aérobie, coliformes fécaux, flore lactique et d'*Enterococcus* a été effectué, tandis que *S. aureus* et *Salmonella spp* ont fait l'objet d'une recherche.

Une représentation graphique des résultats de l'analyse microbiologique du lait cru est donnée sur la figure 08.

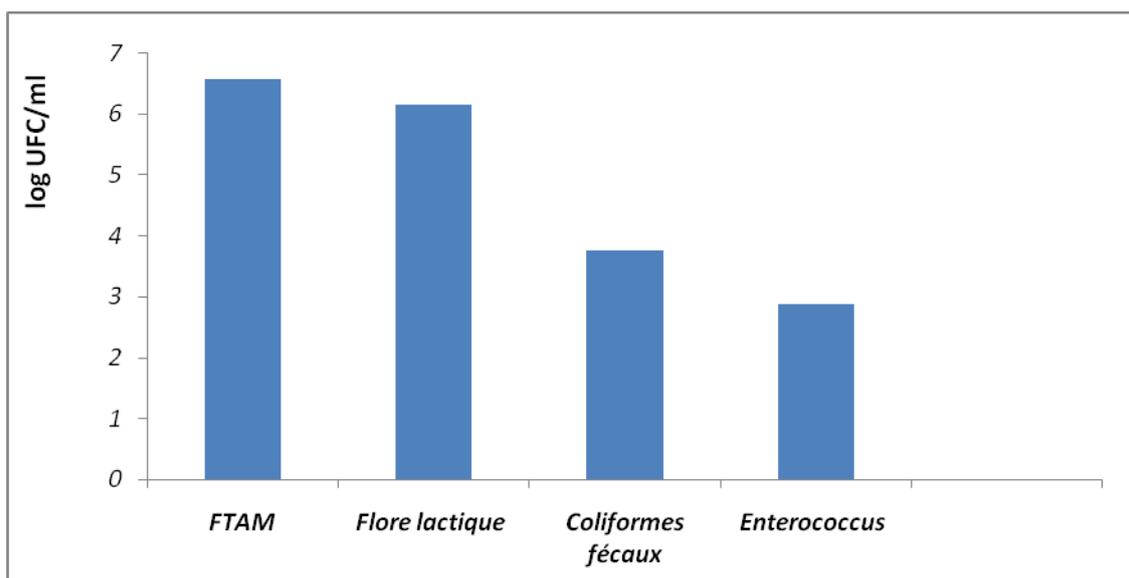


Figure 08: Résultats de l'analyse microbiologique du lait cru

- **Estimation de la charge microbienne du lait cru : épreuve au bleu de méthylène**

Les bactéries se multipliant dans le lait ont la capacité d'abaisser le potentiel d'oxydoréduction (Redox) grâce à l'action de leurs réductases. La rapidité de la décoloration due au métabolisme bactérien est directement proportionnelle au nombre de bactéries présentes. La décoloration du lait analysé ne s'est produite qu'au bout de 14 h ce qui témoigne de la faible quantité de bactéries présentes dans ce lait et de sa bonne qualité microbiologique (Guiraud, 1998).

Remarque : L'ensemble des résultats de l'analyse microbiologique du lait cru sera rapporté et discuté avec ceux du fromage fabriqué.

I. 4. 2. Analyse du fromage frais fabriqué

Le « fromage frais » (juste après fabrication), et après 24 h de conservation à 6°C avec ou sans salage préalable ont été analysés. Les résultats de cette analyse sont illustrés sur la figure 09.

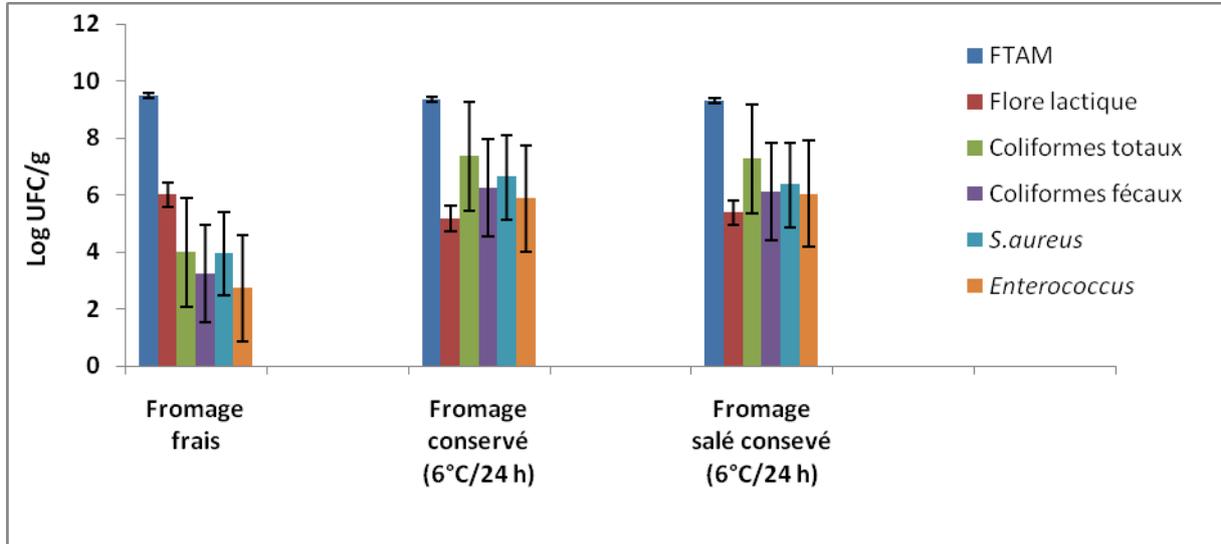


Figure 09 : Résultats de l'analyse microbiologique du fromage frais fabriqué

• Flore totale

L'analyse microbiologique du fromage frais, fabriqué au laboratoire, montre un taux de flore totale de 3.10^9 UFC/g juste après production. Par contre, après 24 h de conservation à 6°C , des taux de $2,1. 10^9$ UFC/g ont été notés au niveau des fromages salés (saupoudrage) et non salés. En comparaison à des fromages artisanaux marocains qui ont présenté un taux de flore totale de $2,5.10^8$ UFC/g, les fromages fabriqués dans notre étude ont une charge bactérienne assez élevée. Ceci pourrait être la conséquence de la qualité microbiologique du lait cru utilisé ($3,6. 10^6$ UFC/ml). Ce taux élevé revient à la contamination du lait durant les différentes étapes de fabrications souvent non hygiéniques, au manipulateur et au matériel utilisé (**Hamama, 1989**). Comme ça peut être causé par la rétention physique des microorganismes dans le caillé et à la multiplication des bactéries au cours de la coagulation et du drainage du lactosérum (**Mikulec et Jovanovic, 2005**).

La charge de la FTAM diminue pendant la conservation du fait du salage qui limite sa croissance et détruit les bactéries. Dans le fromage frais salé, l'utilisation du sel a conduit à une perte plus importante d'eau, et par conséquent un moindre développement bactérien (**Hamama et al., 1995**).

Dans un lait fortement contaminé (10^5 - 10^8 UFC/ml), le lavage soigné de la mamelle, avant la traite, même s'il réduit la flore aérobie mésophile il ne réduit pas le taux de coliformes, la moyenne de cette flore dans le lait est de 10^4 UFC/ml. Les différentes techniques de lavage du matériel de traite ont des effets sur la flore aérobie mésophile, et sur la flore d'altération, la production de lait avec une FTAM riche en flore d'altération (coliformes) est plus fréquente chez les producteurs appliquant des techniques intenses de lavage individuels et réalisation du post- trempage, donc l'alternance journalière de produits détergents alcalin et acide conduit à une irrégularité du pouvoir contaminant du matériel de traite, devenant plus riche en bactéries coliformes (**Michel et al., 2001**).

• Coliformes

La charge du fromage frais, en coliformes totaux (10^4 UFC/g), est inférieure aux taux enregistrés dans les fromages conservés à $6^{\circ}\text{C}/24$ h : $2,3.10^7$ UFC/g dans le fromage non salé et $1,9.10^7$ UFC/g dans le fromage salé.

La croissance a continué pendant la réfrigération (6°C/24 h). De même le salage à sec (saupoudrage) à faible taux n'a pas réduit la charge. En effet, le niveau et le temps de salage a une influence majeure sur les changements de pH, c'est un processus relativement lent pour que le pH diminue à environ 5,0 avant que la concentration en sel ne devienne inhibitrice à l'intérieur du fromage (**Condron et al., 2009**).

Les coliformes croient rapidement durant les premiers jours de stockage (fromages frais), les métabolites des coliformes en particulier le H₂ et le CO₂ induisent un gonflement des fromages emballés. Dans les points de vente, la concentration en coliformes atteint 10⁷ UFC/g ce qui conduit à la dégradation de la matière grasse et au gonflement de l'emballage plastique (**Farkye, 2014**).

Cependant la qualité bactériologique de ce produit ne peut pas être évaluée par le dénombrement de la flore de contamination fécale en raison du caractère fermentaire du produit (**Hamama, 1989**).

Le taux de coliformes fécaux a été de 1,8 .10³ UFC/g dans le fromage frais artisanal au moment de sa fabrication, cette charge a atteint 1,8 .10⁶ UFC/g dans le fromage non salé et 1,3.10⁶ UFC/g dans le fromage salé (conservés à 6°C/24 h). La charge du lait de départ a été assez élevée (5,8. 10³ UFC/ml) comparativement au taux toléré par les normes Algériennes relatives au lait cru 10³UFC/g .Cette charge élevée en coliformes fécaux du fromage frais témoigne de sa mauvaise qualité hygiénique.

La teneur du lait en coliformes fécaux suppose son implication directe en tant que source de contamination par ces derniers. Lors de la conservation à 6°C, les coliformes fécaux ont pu croître rapidement et atteindre des taux d'≈10⁶ UFC/g, *E. coli* peut se multiplier à des températures comprises entre 4°C et 46°C, avec un optimum de croissance à 37°C et à un pH compris entre 4,6 et 9,5 (**Brisabois et al., 1997**).

• *Staphylococcus aureus*

La teneur en *S. aureus* a été de 8,8. 10³ UFC/g dans le fromage frais. Tandis que la teneur du fromage salé conservé à 6°C/24 h (2,3.10⁶ UFC/g) a été inférieure à celle obtenue au niveau du fromage non salé conservé dans les mêmes conditions (4,3. 10⁶UFC/g).

Comme indiqué plus haut, cet agent pathogène tolère des taux de NaCl de 20 %. *S. aureus* se disperse dans la ferme laitière (retrouvée dans les muqueuses d'animaux) et se transmet au fromage au lait cru ce qui explique sa présence dans ce type de fromage (**Yoon et al., 2015**).

Il a été rapporté que le type de lait cru influe sur la qualité microbiologique du fromage, le lait de Brebis est le moins contaminé avec (86% d'échantillons non contaminés) puis vient celui de chèvre avec 66% d'échantillons positifs et enfin le lait de vache avec 55% (le plus contaminé). Les deux derniers laits présentent un risque spécifique de présence de souches de *S. aureus* productrices d'entérotoxines (**Vivegnis et al., 1998**).

• Entérocoques

Le fromage artisanal est assez chargé en entérocoques, surtout après conservation à 6°C/24 h. La charge est passée de $5,5 \cdot 10^2$ UFC/g, taux retrouvé dans le fromage juste après fabrication, à $7,8 \cdot 10^5$ UFC/g et $1,12 \cdot 10^6$ UFC/g dans les fromages conservés sans ou après salage respectivement. Le taux dans les fromages est plus élevé dans ceux conservés à 6°C. Lorsque le taux atteint 10^6 UFC/g, les entérocoques peuvent devenir pathogènes et induire une altération du produit lors du stockage (**Vivegnis et al., 1998**).

La charge d'entérocoques dans le lait cru a été de $7,5 \cdot 10^2$ UFC/ml, ce qui constitue une charge élevée en tenant compte des normes Algériennes (absence dans 0,1 ml). Cette flore a été transmise au fromage, dans lequel elle s'est multipliée lors de la fabrication. Aucune norme ne mentionne le dénombrement ou la recherche des entérocoques dans les fromages artisanaux mais seulement dans le lait cru vue sa présence dans les fèces animales. le taux des entérocoques est lié à l'état de santé de la vache et à d'éventuelles contaminations au cours du dénombrement (**Labioui et al., 2009**).

L'eau de rinçage des machines, l'équipement, et les tanks après désinfection avec une solution d'hypochlorite de Sodium, dans une unité de production laitière fermière n'élimine pas totalement les bactéries de l'équipement, la résistance de certains espèces bactériennes peut être due à la présence d'un biofilm. De ce fait, les entérocoques se retrouvant sur l'équipement sont transférés des surfaces vers le lait ou le fromage (**Gelsomino et al., 2002**).

• Flore lactique

Le taux de flore lactique dans le lait cru, utilisé dans la fabrication du fromage, était de $1,42 \cdot 10^6$ UFC/ml, cette charge a été retrouvée dans le fromage frais ($1 \cdot 10^6$ UFC/g) tandis que dans le fromage conservé, une diminution de la charge à $1,5 \cdot 10^5$ UFC/g a été constatée. Cette diminution pourrait s'expliquer par la réfrigération (6°C/24 h) qui a stoppé la multiplication de la flore lactique. Un bon produit laitier (fromage) devrait avoir une flore lactique d'environ 10^8 UFC/g à la DLC.

Durant le passage à travers le tractus gastro-intestinal (acidité de l'estomac et sels biliaires intestinaux), sa charge pourrait diminuer à environ 10^7 UFC/g du contenu. Cette charge reste suffisante pour permettre à la flore lactique d'exercer des effets probiotiques.

Les probiotiques agissent sur les infections gastro-intestinales par compétitions nutritionnelles et stériques vis-à-vis des agents pathogènes et stimulation du système immunitaire. De plus, les bactéries lactiques en général et les probiotiques en particulier peuvent produire des bactériocines, des acides organiques et du peroxyde d'hydrogène à activité antimicrobienne qui aident l'industrie à développer des aliments sur mesure visant certains segments de la population et améliorer la bio-conservation de ces produits (**Mansel et Griffiths, 2008**).

La flore lactique joue un rôle dans le développement des caractéristiques de divers fromages, son élimination provoque la réduction de la saveur et de l'effet bio-conservateur. Les traitements thermiques ont pour but d'éliminer les agents pathogènes et de réduire la flore d'altération, mais conduit parallèlement à la destruction de la flore lactique qui présente un intérêt technologique. L'équilibre entre la charge des bactéries banales et des bactéries lactiques réside dans les pratiques d'hygiène à la ferme lors de la collecte du lait cru et surtout de la désinfection. Une désinfection excessive conduit à un déclin de la diversité des bactéries du lait cru, ce qui fournit un produit fini de mauvaises qualités microbiologique et sensorielle (**Tormo et al., 2011**).

Remarque :

Dans tous les types de fromages analysés et même dans le lait cru, aucune présence de *Salmonella* spp. a été relevée. La règle générale est de ne pas utiliser un lait contenant des salmonelles. En effet, si la pasteurisation et la forte acidification éliminent un grand nombre de salmonelles, en présence d'une faible acidification (4,55) son taux peut augmenter. La température de maturation et sa présence en grand nombre dans le lait (10^5 UFC/ml) de départ influencent sa survie (**Letondeur et Lahellec, 2000**). Sa résistance aux conditions défavorables (forte salinité, taux d'humidité faible, haute température) lui permet de persister dans le fromage à pâte dure (**Yoon et al., 2015**).

Conclusion

Conclusion

Notre étude montre que les fromages pasteurisés sont de meilleure qualité que celui fabriqué au lait cru. D'après les résultats obtenus, tous les fromages frais et quelques fromages fondus ont été moins contaminés, en particulier par la flore pathogène, cela s'explique par leur acidité élevée, le traitement thermique et les prétraitements auxquels ils étaient soumis lors de leur fabrication. Par contre, dans les fromages à pâte molle et le fromage au lait cru, une teneur élevée en flore microbienne, inhérente à leur procès de fabrication et propriétés physico-chimiques (composition, ...) a été notée. Concernant l'apport en flore lactique, les fromages fondus sont les moins bénéfiques puis vient les fromages frais industriels avec des taux de $4 \cdot 10^6$ - $6,75 \cdot 10^6$ UFC/g puis les pâtes molles ($2,5 \cdot 10^7$ - $8 \cdot 10^8$ UFC/g) et le fromage frais artisanal ($1,5 \cdot 10^5$ - $1 \cdot 10^6$ UFC/g). Dans le cas des fromages à pâte molle ceci revient à la proportion de ferments rajoutée au cours de la coagulation et pour le fromage frais artisanal, ceci serait dû à l'utilisation du lait cru (riche en flore lactique).

Le fromage fabriqué à partir de lait cru renferme une microflore importante par rapport aux fromages fabriqués à partir de lait pasteurisé. Cependant, bien que la croissance de plusieurs bactéries pathogènes soit entravée par des micro-organismes antagonistes appartenant à la communauté microbienne du fromage au lait cru, des contaminants potentiellement pathogènes peuvent ne pas être complètement éliminés ou surviennent après traitement.

Cependant, il est difficile d'affirmer que le lait pasteurisé assure une plus grande sécurité microbiologique que le lait cru, car d'autres facteurs entrent en jeu tout au long du procès de fabrication, telle que l'hygiène de l'environnement et du personnel intervenant dans la fabrication du fromage.

Les résultats de cette étude montrent une bonne qualité microbiologique globale des fromages industriels et l'impact de la qualité du lait cru sur la qualité du fromage. Ce travail nous a permis d'accroître nos connaissances en termes de fabrication fromagère (procès de fabrication), d'utilisation et de l'interprétation des normes en vigueur.

En perspectives, cette étude pourrait être enrichie par d'autres analyses complémentaires (microbiologiques étendues à d'autres flores et physico-chimiques), et d'analyses sensorielles, aussi bien à l'échelle industrielle qu'au niveau des points de ventes.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

-A-

Accolas JP, Hemme D, Desmazeaud MJ, Vassal L, Bouillanne C et Veaux M. (1980). Les levains lactiques thermophiles : Propriétés et comportement en technologie laitière. *Le lait. LX*, 487-524.

Aggad H, Mahouz F, Ahmed AY et Kihal H. (2009). Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien. *Méd. Vét.* 160, 12, 590-595.

Ahaddad R et Kasmi N. (2013) .Suivie du procès de production de fromage à pate molle type « Camembert » au niveau de l'unité Ibarissen. Master en Pharmacologie moléculaire .Université Abderrahmane Mira, Bejaïa ,35p.

Ait Abdelouahab N. (2001). Microbiologie alimentaire. Edition : Office Des Publications Universitaires. Ben-Aknoun. Alger. 147p.

Arilait (1991). L'hygiène pour nos fromages. Volume 4 Edition : Normandie Information Impression. Laplace. Caen. 62p.

Arnal G. (2003). Sources et caractère enterotoxinogène des staphylocoques en élevage ovin laitier. Thèse de Doctorat de Vétérinaire. Université Paul-Sabatier de Toulouse, Ecole National Vétérinaire, 56p.

-B-

Badis A, Guetrani D, Moussa-Boudjema B, Henni DE et Kihal M. (2004). Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. *Food Microbiol.* 21, 579-588.

Badis A, Laouabdia-Sellami N, Guetarni D, Kihal M et Ouzrout R. (2005). Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales "Arabia et kabyle". *Sci et Technol.* 23, 30-37.

Beerens H et Luquet FM. (1987). Guide pratique d'analyse microbiologique des laits et des produits laitiers. Edition : Tec et Doc, Lavoisier. Paris.144p.

Brisabois A, Lafarge V, Brouillaud A, De Buyser ML, Collette C, Garin-Bastuji B et Thorel MF. (1997). Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers : situation en France et en Europe. *Scientifique et Technique de l'OIE.* 16 (1), 452-471.

Burgos J et Ordonez JA. (1977). Etude de la variété de fromage «Ulloa », Préparation d'un levain pour sa fabrication a partir de lait pasteurisé. *LE LAIT.* 565-566.

-C-

Carafa I, Clementi F, Tuohy K et Franciosi E. (2015). Microbial evolution of traditional mountain cheese and characterization of early fermentation cocci for selection of autochthonous dairy starter strains. *Food Microbiology*. 53, 94-103.

Choisy C. (1987). Les levains lactiques et les bactéries lactiques. In : Eck A. (Eds.), *Le fromage*. Tec et Doc, Lavoisier, Paris, pp. 108-118.

Claude JM, Michel P et Jacques R. (2002). Lait de consommation. In : Vignola CL. (Eds.), *Science et technologie du lait*. Presses Internationales Polytechnique, Québec, Canada, pp. 277-321.

Condron R, Desmarchelier P, Dyson R, Eddy D, Hammond L, Kirk M, MacBean R, O'Regan J, Rice S, Robertson J, Willman N, Oakley L. (2009). Microbiological Risk Assessment of Raw Milk Cheese. Dairy Scientific Advisory Panel. Food Standards Australia New Zealand, University of Tasmania in developing the quantitative models, 267p.

-D-

Djafri N et Djaout F . (2015).Evaluation de la qualité microbiologique et physicochimique de fromage frais de fabrication industriel ou artisanal. Master en microbiologie Alimentaire et santé. Université Abderrahmane Mira, Bejaïa ,36p.

Douali H et Boudboub M. (2008) .Contribution aux analyses physico-chimiques et microbiologiques du fromage fondu. Diplome en contrôle de qualité et analyses des aliments .Université Abderrahmane Mira, Bejaïa ,43 page .

Duquenne M. (2010). Incidence de paramètres technologiques sur l'expression de gènes et la production d'enterotoxines de *staphylococcus aureus* au cours des 72 h suivant l'emprésurage des laits en fabrication fromagère. Thèse de Doctorat de microbiologie. Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Paris, 18p.

-E-

Eck A et Gillis JC. (2006). Le fromage. 3^{ème} Edition : Tec et Doc, Lavoisier. Paris. 891p

-F-

Farkye NY. (2014). Microbiology of cheesemaking and maturation. In: Batt CA et Tortorello ML. (Eds.), *Encyclopedia of food microbiology*. Elsevier, London, pp. 395-403.

Federighi M. (2005). Bactériologie alimentaire. 2^{ème} Edition : Economica. Paris. 292p.

Références bibliographiques

Fédération des entreprises du Commerce et de la Distribution. (2015). Critères microbiologiques, Janvier 2015 Issue. <http://www.bourgogne-iaa.com/wp-content/uploads/2014/12/FCD-14-0922-Criteres-microbiologiques_2015_produits_LS_MP_22092014.pdf> (consulté le 03.03.2016).

Franciosi E, Settanni L, Cologna N, Cavazza A et Poznanski E. (2010). Microbial analysis of raw cows' milk used for cheese-making: influence of storage treatments on microbial composition and other technological traits. *Microbiol Biotechnol.* 27, 171–180.

-G-

Galvez AA, Dauphin RD, Destain J, Campos D et Thonart P. (2012). Les entérocoques : avantages et inconvénients en biotechnologie (synthèse bibliographique). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 16(1), 67-76.

Gelsomino R, Vancanneyt M, Cogan TM, Condon S et Swings J. (2002). Source of enterococci in a farmhouse raw-milk cheese. *Applied and Environmental Microbiology.* 68, 3560–3565.

Gillis JC. (2000) . Definitions of cheese and standardisation. In : Eck A et Gillis JC. (Eds.), *cheesemaking from science to quality assurance*. Tec et Doc, Lavoisier, Paris, pp.788-790.

Gripon JC. (2006). Camembert cheese : Technology, Microbiology, Biochemistry. *Dairy Technol Sci.* 24, 25-29.

Guiraud J et Galzy P. (1980). L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Edition : De l'Usine Nouvelle. Paris. 237p.

Guiraud JP. (1998). Microbiologie alimentaire. Edition : Dunod. Paris. 390p.

Guiraud JP. (2003). Microbiologie alimentaire. Edition : Dunod. Paris. 651p.

Guiraud JP et Rosec JP. (2004). Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Edition : Afnor. Saint-Denis-La plaine. 300p.

Guittonneau G et Keilling J. (1939). Les formes levures dans la flore superficielle des fromages de camembert. *Le lait.* 1, 338-358.

-H-

Hamama A. (1989). Qualité bactériologique des fromages frais marocains. *Options Méditerranéennes.* 6, 223-227.

Hamama A, El marrakchi A, Mahi N et Aboudrar W. (1995). Préparation du jben pasteurisé à l'aide de levains lactiques sélectionnés. *Institut Agronomique et Vétérinaire.* 15 (3), 27-32.

Références bibliographiques

Hamitouche L et Mahammedi N et Madani .K .(2014).Suivie de la répétabilité du processus de fabrication du fromage à pate molle type « Camembert » .Master en biotechnologie agro-alimentaire et nutrition .Université Abderrahmane Mira ,Bejaïa,50p .

-I-

ISO 5541. (1986). Lait et produits laitiers, Dénombrement des coliformes, Partie 1: Technique par comptage des colonies à 30°C.

ISO 6888-1. (1990). Microbiologie des aliments, Méthode horizontale pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces), Partie 1 : technique utilisant le milieu gélosé de Baird-Parker.

-J-

Jamet E. (2009). Les bactéries lactiques : une composante de l'écosystème microbien des fromages. In : Drider DJ et Prévost H. (Eds.), Bactéries lactiques. Economica, Paris, pp. 319-343.

Jaouen CL et Mouillot M. (1985). Fromage a partir de lait de chèvre. In : Luquet FM. (Eds.), Laits et produits laitiers vache brebis chèvre. Tec et Doc, Lavoisier, Paris, pp. 295-336.

Jeantet R, Croguennec T, Mahaut M, Schuck P et Brulé G. (2008). Les produits laitiers. 2^{ème} Edition : Tec et Doc. Lavoisier. Paris. 185p.

Joffin C et Joffin JN. (2010). Microbiologie alimentaire. 6^{ème} Edition : Centre régional de documentation pédagogique. Aquitaine. Bordeaux. 344p.

J.O.R.A (1998). Journal Officiel de la République Algérienne N°35. Critères microbiologiques des Laits et des produits laitiers.

J.O.R.A (2005). Journal Officiel de la République Algérienne N°42. Méthode de recherche des salmonella dans le lait et les produits laitiers.

-K-

Kelly AL, Huppertz T et Sheehan JJ. (2008). Pre-treatment of cheese milk: principles and developments. *Dairy Sci. Technol.* 88, 549–572.

Kousta M, Mataragas M, Skandamis P et Drosinos EH. (2009). Prevalence and sources of cheese contamination with pathogens at farm and processing levels. *Food Control.* 21, 805–815.

-L-

Labioui H, Elmoualdi L, Benzakour A, El yachioui M, Berny EH et Ouhssine M. (2009). Étude physicochimique et microbiologique de laits crus. *Bull. Soc. Pharm.* 148, 7-16.

Ledenbach LH et Marshall RT. (2009). Microbiological spoilage of dairy products. DOI 10.1007/978-1-4419-0826-1_2. Springer Science+Business Media, LLC.
TY

Lenoir J. (1963). La flore microbienne du camembert et son évolution au cours de la maturation. *C, R. Acad. Agr.* 48, n°8, 392.

Lenovich LM. (1987). Survival and death of microorganisms as influenced by water activity. In: Rockland LB et Beuchat LR. (Eds.), *Water activity : Theory and applications to food.* Marcel Dekkar, INC. New York, pp. 119-133.

Letondeur LV et Lahellec C. (2000). Hygiene aspects. In : Eck A et Gillis JC. (Eds.), *cheesemaking from science to quality assurance.* Tec et Doc, Lavoisier, Paris, pp.688-702.

Luquet FM. (1985). Laits et produits laitiers vache brebis chèvre. 2^{ème} Edition : Tec et Doc. Lavoisier. Paris. 633p.

Luquet FM. (1986). Laits et produits laitiers vache brebis chèvre. 2^{ème} Edition : Tec et Doc. Lavoisier. Paris. 460p.

Luquet FM. (1990). Laits et produits laitiers vache brebis chèvre. 2^{ème} Edition : Tec et Doc. Lavoisier. Paris. 637p.

-M-

Mahaut M, Jeantet R et Brulé G. (2000). Initiation à la technologie fromagère. Edition : Tec et Doc, Lavoisier. Paris.194p.

Mansel W et Griffiths. (2008). Probiotiques vs infections gastro-intestinales. *Department of Food Science.* Session3.

Michel V, Hauwuy A et Chamba JF. (2001). La flore microbienne de laits crus de vache : Diversité et influence des conditions de production. *Lait, INRA, EDP Sciences.*81, 575-592.

Mikulec PD et Jovanović L. (2005). Microbiological study of fresh white cheese (a serbian craft variety). *Applied Ecology and Environmental Research.* 4, 129-134.

Ministère de la santé du Luxembourg. (2015). Critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires. Lignes directrices pour l'interprétation, Novembre 2015 Issue. < http://www.securite-alimentaire.public.lu/professionnel/denrees_alimentaires/qualite_aliments/recueil_criteres_microbiologiques/recueil_criteres_microbiologiques.pdf > (03.03.2016).

Références bibliographiques

Miron ND, Nistor ID, Dospinescu AM et Grădinaru A. (2006). Etude des quelques facteurs d'influence pour le processus de fondaison dans les fromages fondus. *Scientific Study & Research*. Vol. VII (3), ISSN 1582-540X.

Montel MC et Chatelard-Chauvin C. (2014). Fromages traditionnels : Bénéfices associés à la richesse et à la diversité de leur microbiote. *International Journal of Food Microbiology* . 177, 136-154.

Moullec M. (2002). Les sources de contamination microbiologique du lait de bovins de la production à la consommation dans les pays du sud. Diplôme d'études supérieures spécialisées productions animales en régions chaudes. Université Montpellier II, UFR Sciences, Place Eugène Bataillon, 39p.

Mourgues R, Vassal L, Auclair J, Mocquot G et Vandeweghe J. (1977). Origine et développement des bactéries coliformes dans les fromages à pâte molle. *Station Centrale de Recherches Laitières, I.N.R.A.* 78350, 131-149.

-N-

NF ISO 15214. (1998). Microbiologie des aliments, Méthode horizontale pour le dénombrement des bactéries lactiques mésophiles, Technique par comptage des colonies à 30°.

NF V08-060. (2009). Microbiologie des aliments, Dénombrement des coliformes thermotolérants par comptage des colonies à 44° C.

-P-

Pfenninger S, Edder P et Jermini M. (2015). Les fromages au lait traité thermiquement ont une qualité hygiénique supérieure aux fromages au lait cru. *Association des chimistes cantonaux de Suisse*.

Pillet MR, Magras C et Federighi M. (2005). Bactéries lactiques. In : Federighi M. (Eds.), *Bactériologie alimentaire*. Economica, Paris, pp. 219-239.

Pougheon S et Goursaud J.(2001) .Le lait et ses constituants :Caractéristique physicochimiques ,In :Debry G.(Eds.),Lait ,nutrition et santé .Tec et Doc ,Lavoisier .Paris ,pp.4-41.

Pradal M. (2012). La transformation fromagère caprine fermière. Edition : Lavoisier. Paris. 295p.

-R-

Ray B. (1996). Probiotics of lactic acid bacteria: science or myth?. In: Bozoglu TF et Ray B. (Eds.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Germany, pp. 101-136.

Ray MC. (2003). Lait cru ou pasteurisé, entre tradition et hygiène. *Futura-Sciences*. 1-14.

Renault P. (1996). Progress in genetic research of lactic acid bacteria. In: Bozoglu TF et Ray B. (Eds.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Germany, pp. 15-36.

Références bibliographiques

Richard J et Desmazeaud M. (1997). Le lait de fromagerie. In: Eck A et Gilis JC. (Eds.), Le fromage. Tec et Doc, Lavoisier, Paris, pp.202-209.

Richard J et Zadi H. (1983). Inventaire de la flore bactérienne dominante des Camemberts fabriqués avec du lait cru. *HAL*.63, 623-624.

-T-

Tesone S et Quevedo F. (1978). Contrôle microbiologique du fromage. I. Fromage à pâte molle. *HAL*. 58, 571-572.

Thibaudeau E. (2011). Impact de la réduction du sodium dans une production de fromage mozzarella. Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures et postdoctorales. Université Laval, Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation, Qubec, 150p.

Thompson J et Gentry CR. (1994). Métabolisme des sucres par bactéries lactiques. In : Roissart H et Luquet FM. Volume I, (Eds.), Bactéries lactiques. Lorica, France, pp.239-284.

Tormo H, Delacroix-Buchet A, Lopez C, Ali Haimoud Lakhel D et Roques C. (2011). Farm management practices and diversity of the dominant bacterial species in raw goat's milk. (2011). *International Journal of Dairy Science*. ISSN 1811-9743/ DOI : 10.3923.

-V-

Vassal L et Gripon JC. (1984).L'amertume des fromages à pâte molle de type Camembert : rôle de la présure et de *Penicillium caseicolum* ,moyen de la contrôler. *Le lait* .64, 397-417.

Verraes C, Vlaemynek G, Van Weyenberg S, De Zutter L, Daube G, Sindic M, Uyttendaele M et Herman L. (2015). The microbiological hazards of dairy products made from raw milk. *International Dairy Journal*. 50, 32-44.

Vierling E. (2008). Aliments et boissons filières et produits. 3^{ème} Edition: CRDP d'aquitaine. Wolters Kluwer, France. 275p.

Vignola CL. (2002). Science et technologie du lait. Edition : Presses Internationales Polytechnique. Québec. 600p.

Villeneuve Y. (2007). Étude sur l'évolution de *staphylococcus aureus* lors de la transformation fromagère au lait cru. *Lait cru*. Conseil des industriels laitiers. Québec.

Vivegnis J, Dubois CH, Nicolay L, Mairy F, Jacob C, Piraux E, El Lioui M et Decallonne J. (1998). Qualité microbiologique des fromages artisanaux fabriqués au lait cru en Région wallonne. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*. 2 (4), 248–255.

-W-

Références bibliographiques

Walther B, Schmid A, Sieber R et Wehrmuller K. (2008). Cheese in nutrition and health. *Dairy Sci. Technol.* 88, 389–405.

-Y-

Yoon Y, Lee S et Choi KH. (2015). Microbial benefits and risks of raw milk cheese. *Food Control.* 63, 201-215.

Annexes

Annexes I

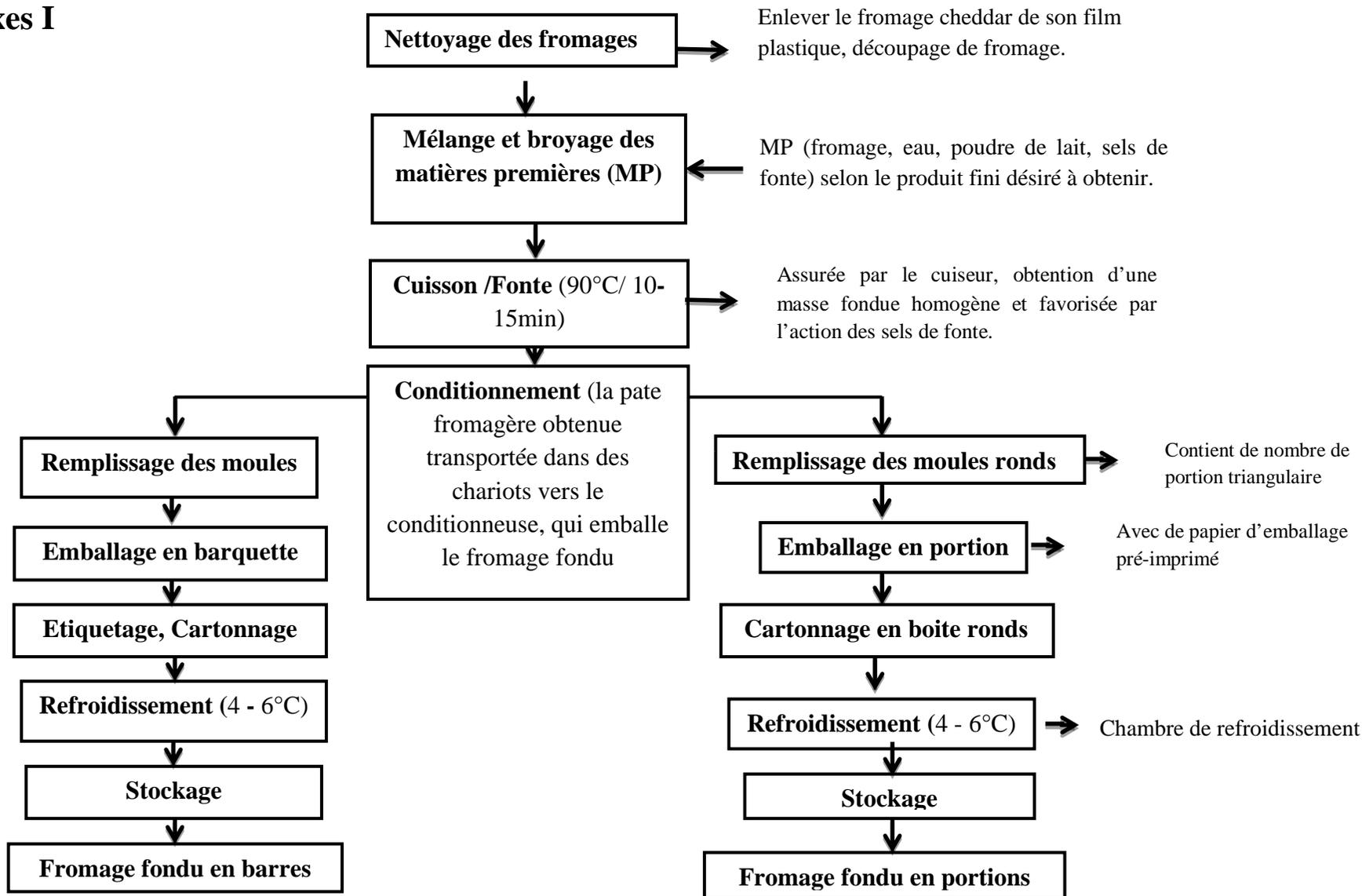


Figure 01. Diagramme de fabrication du fromage fondu à l'unité Ramdy (W.Bejaia) (Douali et Boudboub, 2008).

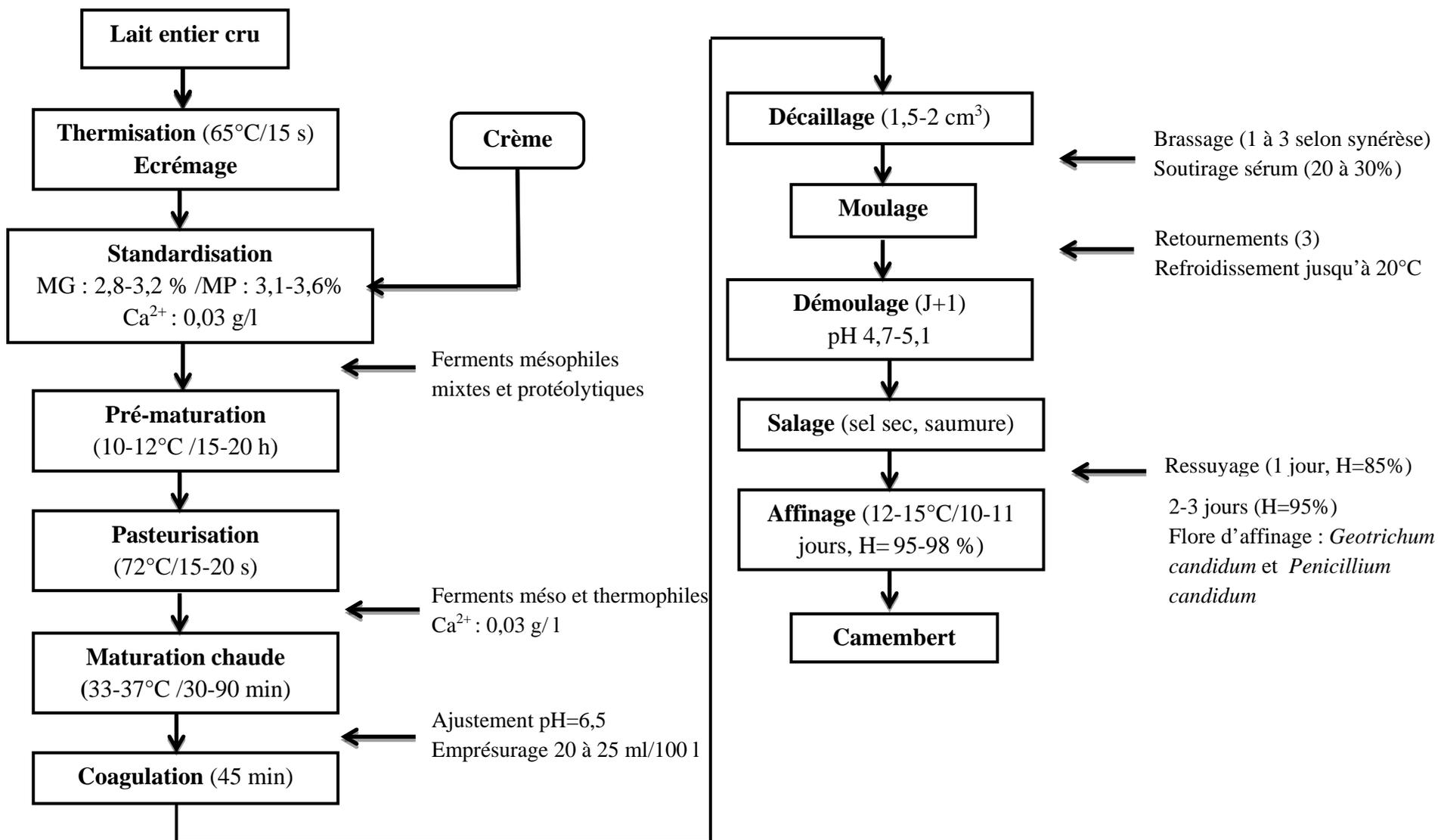


Figure 02. Diagramme général de la technologie de fabrication du Camembert industriel (Jeantet et al., 2008).

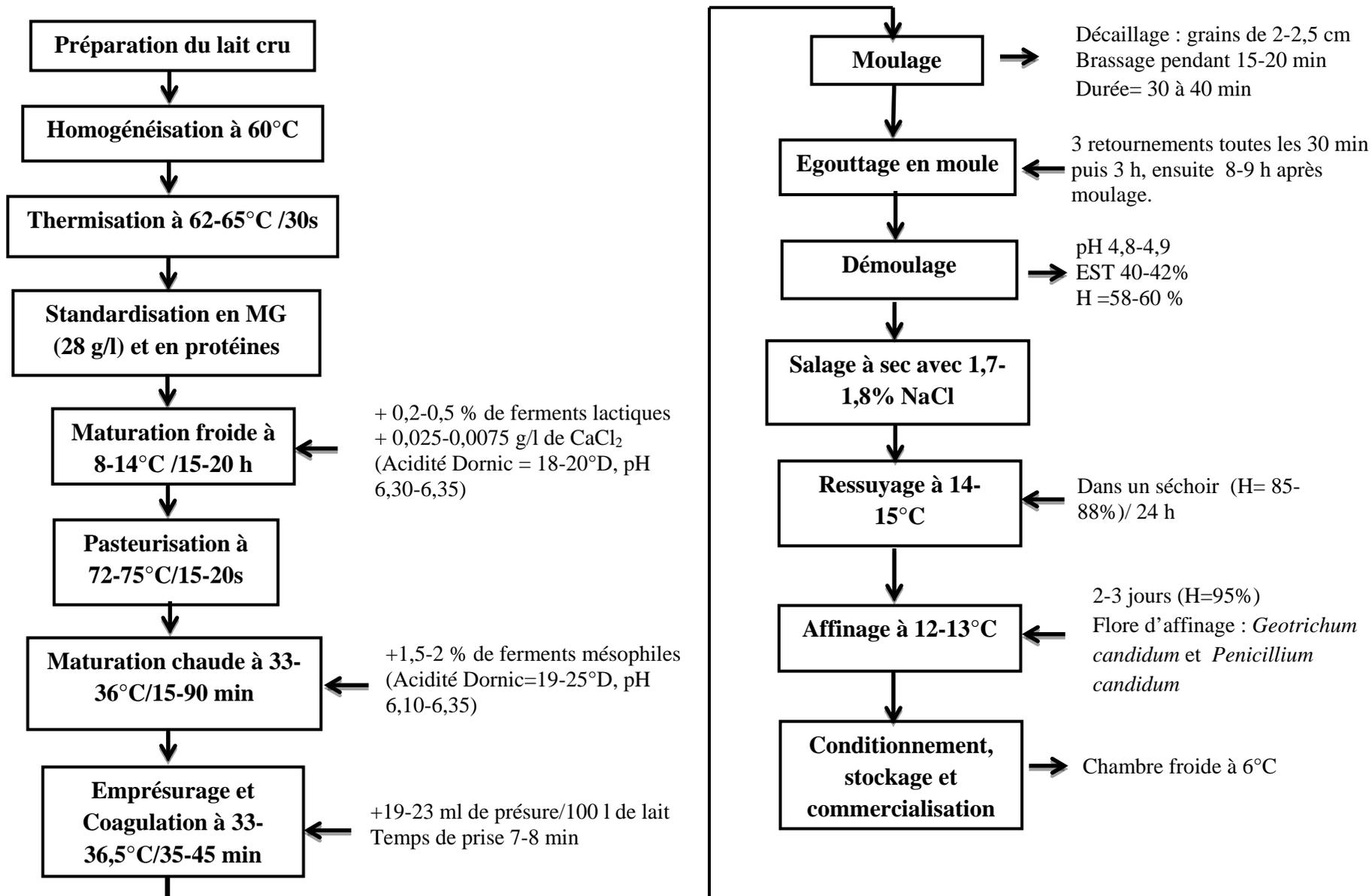


Figure 03. Diagramme de fabrication du fromage à pâte molle type « Camembert » à l’unité Draa Ben- Khedda (Tizi Ouzou) (**Hamitouche, Mahammedi et Madani , 2014**)

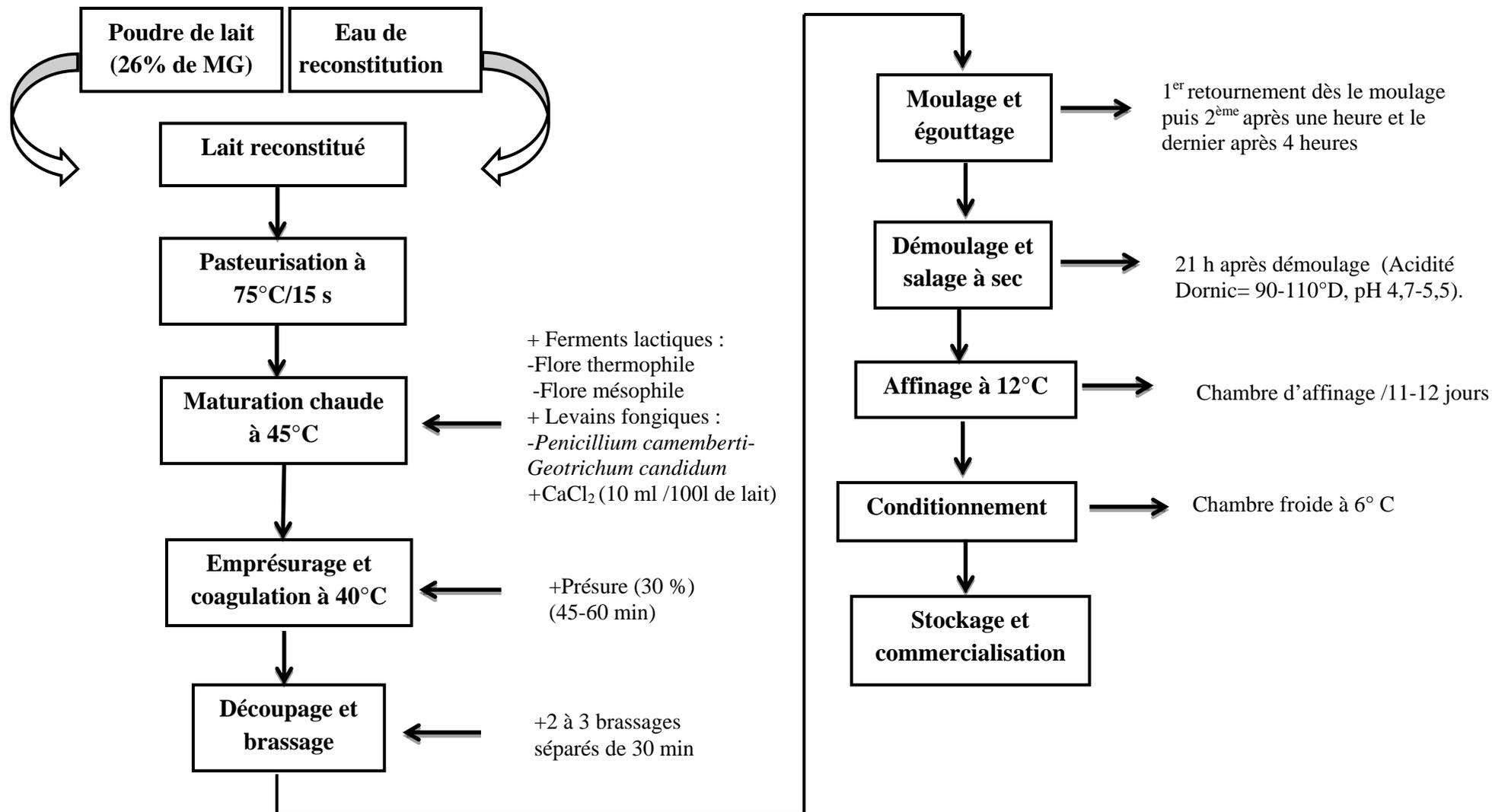


Figure 04. Diagramme de fabrication du fromage à pâte molle de type « Camembert » à l’unité Ibarissaen (W. Béjaia) (Ahaddad et Kasmi, 2013)

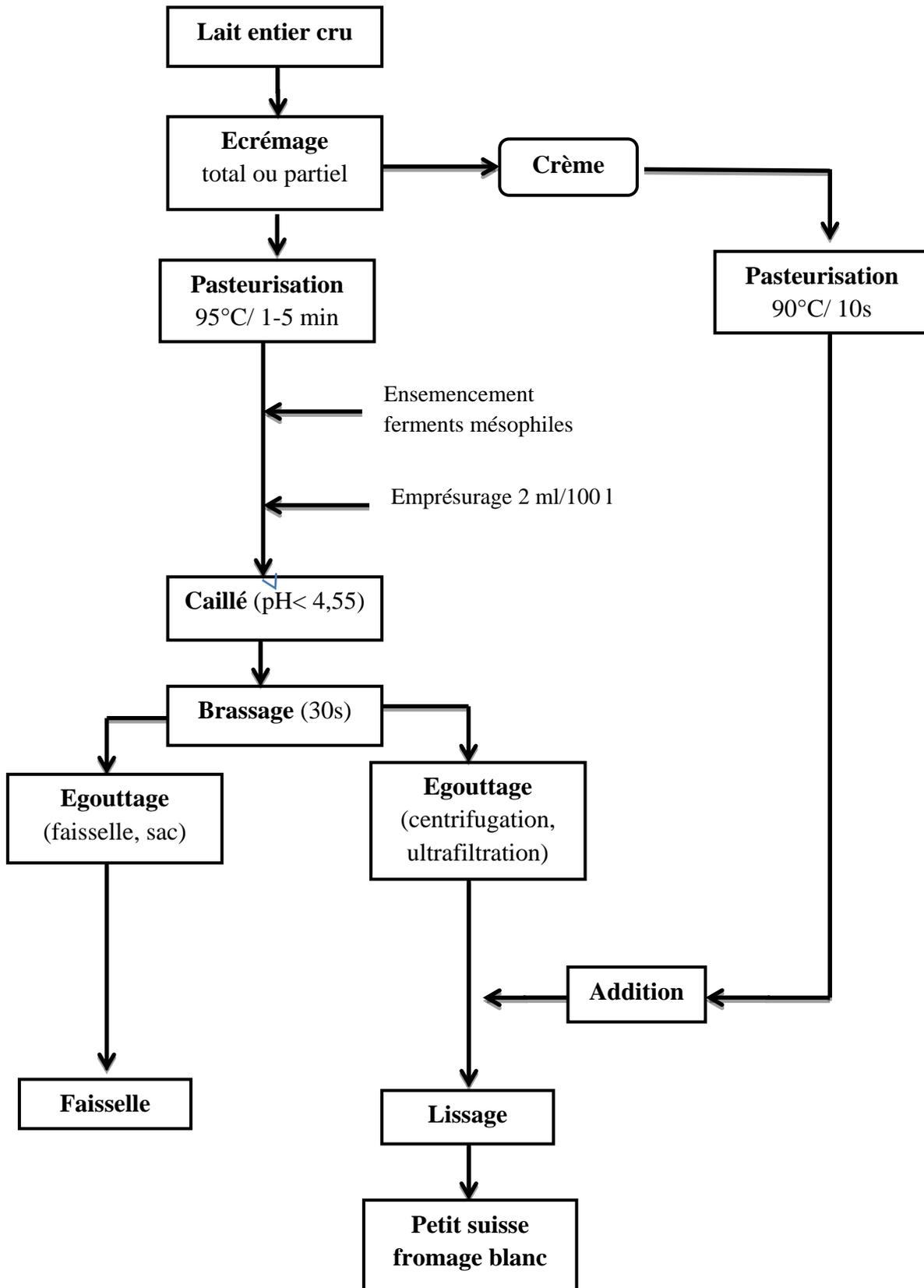


Figure 05. Diagramme général de la technologie de fabrication des fromages frais (Jeantet et al., 2008).

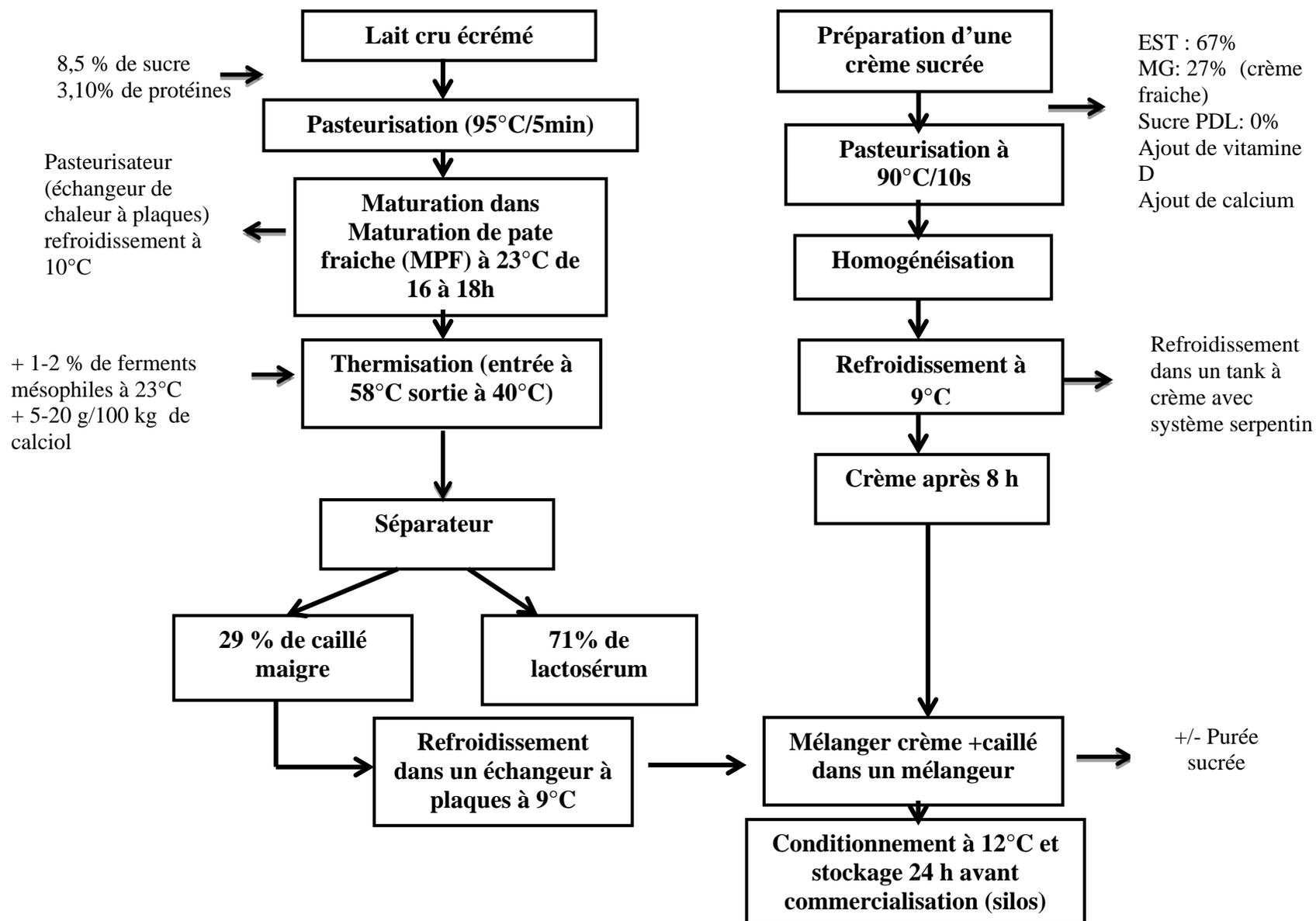


Figure 06. Diagramme de fabrication du fromage frais « Danino » à l’unité Danone (W. Béjaia).

Tableau I : Caractéristiques des fromages frais industriels analysés

Marque fromage	Composition et poids net (selon étiquetage)	Lieu de fabrication	Aspect, texture et couleur	Température de conservation	Point de vente
N°1 : Danino nature sucrée	-Lait écrémé, lait reconstitué écrémé, crème fraîche, sucre, présure, ferments lactiques (danone), vitamine D, additifs alimentaires (citrate de tricalcium), MG : 6,36 g -Poids net : 45 g	Danone Djurdjura, zone industrielle Taharacht Akbou (W. Béjaia)	-Texture molle -Couleur blanche	-T°=6°C	-Superette Targa Ouzemour (W. Béjaia)
N°2 : Tassili nature	-Lait pasteurisé, ferments lactiques. -MG : 3 % -Poids net : 80 g	Laiterie de Draa Ben Khedda, rue Kasri Ahmed (W. Tizi Ouzou)	-Texture molle -Couleur blanche, -Pot gonflé	-T°= entre 2° et 6°C	- Superette Targa Soummam (W. Béjaia)
N°3 : Lactel	-Lait reconstitué écrémé, crème fraîche, ferments lactiques, présure, additifs alimentaires, conservateur alimentaire SIN 202 > 1000 mg/Kg -G/S : 20 %, Poids net : 90 g	S.A.R.L Celia Algérie, rue frères Zadri, Beni Tamou (W. Blida)	-Texture molle -Couleur blanche	-T°= entre 2° et 6°C	- Superette Targa Ouzemour (W. Béjaia)
N°4 : Soummam	-Lait reconstitué écrémé, crème fraîche, ferments lactiques, présure. -MG : 4 à 5 %, -Poids net : 30 g	Laiterie Soummam, zone industrielle Taharacht, Akbou (W. Béjaia)	-Texture molle -Couleur blanche	-T°= entre 2° et 6°C	- Superette Targa Ouzemour (W. Béjaia)
N°5 : Danino aux fruits (banane)	-Lait écrémé, lait reconstitué écrémé, crème fraîche, sucre, mélange de bananes, présure, ferments lactiques (danone), additifs alimentaires (citrate de tricalcium, phosphate de di-amidon hydroxypropylé, colorant artificiel (β- carotène), régulateur d'acidité -MG : 6 g, Poids net : 45 g	Danone Djurdjura, zone industrielle, Taharacht, Akbou (W. Béjaia)	-Texture molle -couleur jaunâtre	-T°=6°C	- Superette Targa Ouzemour (W. Béjaia)

Tableau II : Caractéristiques des fromages à pâte molle industriels analysés

Marque fromage	Composition et poids net (selon étiquetage)	Lieu de fabrication	Aspect, texture et couleur	Température de conservation	Point de vente	Date d'analyse et date de fabrication
N°1 : Le Tigre de Mirzana	-Lait, lait reconstitué complet, ferments lactiques, sel, Penicillium, chlorure de calcium, conservateur alimentaire SIN 509, présure. -MG/ES : 30 % minimum -Poids net : 129 g.	-Tifra Laitn, route de Chourfa Tizirt (W. Tizi Ouzou)	-Texture molle, - Croûte molle entièrement recouverte de moisissures blanches - Couleur de la pâte allant du blanc cassé au jaune pâle.	-T°= entre +4°/+6°C	-Superette Madala (W. Béjaia)	22/02/2016 13/02/2016
						13/03/2016 04/03/2016 (A consommer de préférence avant 45 jours de sa date de fabrication)
N°2 : Le Subtil UniVert	-Lait pasteurisé, ferments, Penicillium, présure, sel, additifs alimentaires, chlorure de calcium, le stabilisant SIN 509. -MG/ES : 40 % -Poids net : 130 g.	S.A.R.L Laiterie UniVert Milk, zone des parcs, Tala Athmane (W. Tizi Ouzou)	-Texture molle, - Croûte molle entièrement recouverte de moisissures blanches - Couleur de la pâte allant du blanc cassé au jaune pâle.	-T°= entre 3° et 6°C	-Superette Madala (W. Béjaia)	22/02/2016 15/02/2016
						13/03/2016 25/02/2016 (A consommer de préférence avant 45 jours de sa date de fabrication)

Tableau III : Caractéristiques des fromages fondus industriels analysés

Marque fromage	Composition et poids net (selon étiquetage)	Lieu de fabrication	Aspect, texture et couleur	Température de conservation	Point de vente	Date d'analyse et DLC
N° 1 : Le petit marin	-Fromage, matière grasse végétale, poudre de lait, protéines du lait, additifs alimentaires, sel de fonte < 20000 mg/Kg, agents de conservation (SIN 452, SIN 339 phosphate de sodium, SIN 331 citrate de sodium), agents de conservation (SIN 1422, SIN 407), SIN 330 acide citrique, arôme de fromage, sel de table, eau, -45% de matière grasse sur extrait sec, garantie UHT, -Poids net : 220 g	S.A.R.L Tammy, rue des dunes, Cheraga (W. Alger)	-Texture molle, - Couleur blanche	-T°= entre +8°et +12°C	-Superette Soumam (W. Béjaia)	23/02/2016 30/05/2016
						15/03/2016 30/05/2016
N° 2 : Ramdy	-Poudre de lait, matière grasse laitière, eau, fromage, additifs alimentaires : émulsifiants SIN 450, SIN 452 , SIN 407, SIN 410, SIN 508 épaississants BPF, SIN 330 régulateur d'acidité BPF, SIN 234 agent de conservation et sel de table -Poids net : 240 g	S.A.R.L Ramdy, zone industrielle Taharacht, Akbou (W. Béjaia)	-Texture molle, - Couleur blanche	-T°= entre +2°et +6°C	-Superette Targa Ouzemour (W. Béjaia)	24/02/2016 08/05/2016
						14/03/2016 14/04/2016
N° 3 : Quisto	-Pâte de fromage, poudre de lait, matière grasse végétale, amidon, eau, sel de fonte, (SIN 452, SIN331). G/S : 40% -Poids net : 440 g	S.A.R.L CLM 1, Boulevard Meziane Lounès, Khraicia (W. Alger)	-Texture molle, - couleur blanche	-T°= +6°C	-Superette Targa Ouzemour (W. Béjaia)	24/02/2016 11/07/2016
						15/03/2016 10/07/2016
N° 4 : Le président Alvita	-Lait reconstitué écrémé, matière grasse laitière, fromage, lait de vache, ferments lactiques, sel, présure, protéines du lait, additifs alimentaires (SIN 339, SIN 450, SIN 452), émulsifiants, SIN 330, SIN 331, régulateurs d'acidité SIN 407, SIN 1442, épaississants BPF, sel, vitamine D. -Poids net : 240 g	S.A.R.L Celia Algérie, rue frères Zadri, Beni Tamou (W. Blida)	-Texture molle, - couleur blanche	-T°= entre +4° et +12°C	-Superette Targa Ouzemour (W. Béjaia)	24/02/2016 15/12/2016
						14/03/2016 15/12/2016

Tableau IV. Normes Algériennes (J.O.R.A, 1998)

Flores (UFC/g)	Fromage frais	Fromage à pâte molle	Fromage fondu	Fromage à pâte dure et demi-dure
Coliformes	10	10 ²	10	/
Coliformes fécaux	1	10	1	/
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	10 ²	10	10 ²
<i>Listeria monocytogenes</i>	Absence	Absence	Absence	Absence
<i>Salmonella spp.</i>	Absence	Absence	Absence	Absence
Clostridium sulfito-réducteurs à 46°C	/	1	/	/

/ : Pas d'analyse

Tableau V. Normes Françaises de 1987 (Arilait, 1991)

Type de fromages	Microorganismes	Concentration maximal
Fromages frais pasteurisé	-Coliformes à 30°C -Coliformes fécaux - <i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Salmonella</i>	10/g 1/g 10/g 0 dans 25 g
Fromages à pâte pressée cuite	-Flore totale -Coliformes - <i>Pseudomonas</i> - <i>Salmonella</i>	< 5 10 ⁴ par g <30/g 0/g 0 dans 25 g
Fromages à pâte molle pasteurisée	- Coliformes - Coliformes fécaux - <i>Staphylocoques</i> - <i>Salmonella</i>	100/g 100/g 100/g 0 dans 25 g

Tableau VI. Normes Européennes (Fédération des entreprises du commerce et la distribution, 2015)

Denrée	Flores	Critère REG EU 2073
Fromages au lait thermisé	Moisissures*	/
	<i>E. coli</i>	100/g
	Staphylocoques à coagulase +	100/g
	Entérotoxine	Recherche si Staphylocoques > 10 ⁵
	Salmonella	Absence/25g
	<i>Listeria monocytogenes</i>	Absence/25g*
Fromages à pâte dure au lait pasteurisé	Moisissures*	/
	<i>E. coli</i>	100/g
	Staphylocoques coagulase +	100/g
	Entérotoxine	Recherche si <i>S.aureus</i> > 10 ⁵
	<i>Listeria monocytogenes</i>	Absence /25g*
Fromages non affinés au lait pasteurisé type fromage frais y compris fromage blanc	Levures-moisissures***	/
	<i>E.coli</i>	100/g
	Staphylocoques coagulase +	10/g
	Entérotoxines	Recherche si <i>S.aureus</i> > 10 ⁵
	<i>Listeria monocytogenes</i>	Absence /25g*
Fromages de lactosérum frais pasteurisé	Levures-moisissures	/
	<i>E. coli</i>	100/g
	Staphylocoques coagulase +	10/g
	Entérotoxine	Recherche si <i>S.aureus</i> > 10 ⁵
	<i>Listeria monocytogenes</i>	Absence /25g*

- REG EU: Le règlement de l'union européenne.
- Moisissures*: Critère à retenir pour les fromages râpés.
- /: pas d'analyse,
- Abs/25g*: Ou dérogations prévues par le règlement (CE) N°2073/2005.
- Levures Moisissure***: Ce critère ne doit pas être retenu pour les fromagesensemencés en levures.

Annexes

Tableau VII. Normes du Luxembourg (d'après le ministère de la santé, du Luxembourg 2015)

Microorganisme	Fromage au lait cru	Fromage au lait thermisé ou traité thermiquement	Fromage frais
<i>E.coli</i>	M=10 ⁵ UF C/g, m=10 ⁴ UFC/g	M=10 ³ UFC/g, m=10 ² UFC/g	M=10 ³ UFC/g, m=10 ² UFCg
<i>L.monocytogenes</i>	m=10 ² UFC /g	m=10 ³ UFC /g	m=10 ² UFC /g
Salmonella	Abs/25g	Abs/25g	Abs/25g
Staphylocoques à coagulase +	M=10 ⁵ UFC g, recherché l'entérotoxine m=10 ⁴ UFC /g	M=10 ⁵ UFC /g, m=10 ⁴ UFC /g	/

Tableau VIII. Résultats de l'analyse microbiologique des fromages frais

Les flores (UFC/g)	Lactel	Danino nature sucrée	Soummam	Tassili	Danino aux fruits
Flore totale mésophile aérobie	4,3. 10 ²	2,2. 10 ⁴	10 ²	4,0. 10 ³	10 ⁴
Flore lactique	4,0. 10 ⁶	4,0.10 ⁷	0,0	0,0	6,75. 10 ⁶
Coliformes totaux	3,0	3,0	0,0	3,0	0,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	7,0	7,0	0,0	13,0	10,0
Entérocoques	0,0	0,0	0,0	2,0. 10 ²	10 ³

Tableau IX. Résultats de l'analyse microbiologique des fromages fondus

Les flores (UFC/g)	Petit marin	Ramdy	Quisto	Président Alvita
Flore totale mésophile aérobie	2,8.10 ²	6 ,3.10 ²	6,0.10 ²	5 ,0 .10 ²
Flore lactique	0,0	0,0	0,0	3 ,7 .10 ²
Coliformes totaux	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	3 ,6.10 ²	10	33	20
Entérocoques	27	10 ³	2 ,0.10 ²	0,0

Annexes

Tableau X. Résultats de l'analyse microbiologique des fromages à pâte molle

Les flores (UFC/g)	Tigre de mirzana	Le subtil Univert
Flore totale mésophile aérobie	1,0.10 ⁷	1,8.10 ⁷
Flore lactique	8,0.10 ⁸	2,5.10 ⁷
Coliformes totaux	3,8.10 ⁵	1,1.10 ⁶
Coliformes fécaux	9,0.10 ³	8,3.10 ⁴
<i>Staphylococcus aureus</i>	3,0.10 ⁴	1,4.10 ⁶
Levure et moisissure	8,4.10 ⁵	4,9.10 ⁵

Tableau XI. Résultats de l'analyse microbiologique du lait cru

Les flores (UFC/ml)	Lait cru
Flore totale mésophile aérobie	3,6.10 ⁶
Flore lactique	1,42.10 ⁶
Coliformes fécaux	5,8.10 ³
Entérocoques	7,5.10 ²
Antibiotique	Absence ATB

Tableau XII. Résultats de l'analyse microbiologique du fromage artisanal

Les flores (UFC/g)	Fromage frais	Fromage frais conservé	Fromage salé conservé
Flore totale mésophile aérobie	3,0.10 ⁹	2,2.10 ⁹	2,0.10 ⁹
Flore lactique	1,0.10 ⁶	1,5.10 ⁵	2,4.10 ⁵
Coliformes totaux	10 ⁴	2,3.10 ⁷	1,9.10 ⁷
Coliformes fécaux	1,8.10 ³	1,8.10 ⁶	1,3.10 ⁶
<i>Staphylococcus aureus</i>	8,8.10 ³	4,3.10 ⁶	2,3.10 ⁶
Entérocoques	5,5.10 ²	7,8.10 ⁵	1,12.10 ⁶

Tableau XIII. Résultats des tests d'identification des coliformes fécaux retrouvés dans les fromages industriels

Fromages industriels	Isolement sur EMB	Test de Shubert			Observation microscopique		Test de catalase
		Trouble	Gaz	Indol	Gram	Forme	
Le subtile 1	+	+	+3/10	-	-	Cocobacille isolé en amas	-
Le subtile 2	+	+	+1/10	-	-	Cocobacille en chaînette	-
Le subtile 3	+	+	+4/10	-	-	Cocobacille isolé en chaînette, diplocoque	-
Tigre	+	+	+2/10	-	-	Bacille en chaînette	-
Tigre 2	+	+	+4/10	-	-	Bacille en chaînette	-
Tigre 3	+	+	+5/10	-	-	Bacille en amas	-

+ : Résultat positif , - : Résultat négatif

Tableau XIV. Résultats des tests d'identification des coliformes fécaux retrouvés dans le fromage artisanal et dans le lait cru

Fromage artisanal + lait	Isolement sur EMB	Test de Shubert			Observation microscopique		Test de catalase
		Trouble	Gaz	Indol	Gram	Forme	
Fr2 1	+	+	+3/10	-	-	Bacille en chaînette	-
Fr2 2	+	+	+4/10	-	-	Bacille en chaînette	-
Fr1s1	+	+	+4/10	-	-	Bacille en filament	-
Fr1s2	+	+	+2/10	-	-	Bacille en chaînette	-
Fr2c1	+	+	+5/10	-	-	Bacille en chaînette	-
SM1 lait	+	+	+3/10	-	-	Raté	-
SM2lait	+	+	+2/10	-	-	Raté	-
SM 3lait	+	+	+7/10	-	-	Bacille	-

+ : Positif, Gram +, - : Négatif, Gram - , Fr2 : Fromage pendant fabrication, Fr1s1 : Fromage salée après conservation pendant 24h, Fr2c : Fromage non salée conservation pendant 24h.

Annexes

Tableau XV. Résultats des tests d'identification de *Staphylococcus aureus* isolé des fromages industriels

Fromages industriels	Isolement sur Baird Parker	Test de coagulase lecture au bout de				Gram	Forme	Test de Catalase
		2h	4h	6h	18h			
Petit 1	+	-	-	-	-	+	Cocci en chaînette	+
Petit 2	+	-	-	-	-	+	Cocci en amas	+
Ramdy 1	+	-	-	-	-	+	Cocci en amas	-
Ramdy 2	+	-	-	-	-	+	Cocci en amas	-
Ramdy 3	+	-	-	-	-	+	Cocci en amas	+
Quisto1	+	-	-	-	-	+	Cocci en amas	-
Quisto2	+	-	-	-	-	+	Cocci en amas	-
Président 1	+	-	-	-	+	+	Cocci en amas	+
Président 2	+	-	-	-	+	+	Cocci en amas	+
Subtile 1	+	-	-	-	+	+	Cocci en amas	+
Subtile 2	+	-	-	-	-	+	Cocci en amas	+
Danino nature	+	-	-	-	-	+	Cocci en amas	+

+ : Positif, - : Négatif

Tableau XVI. Résultats des tests d'identification de *S. aureus* isolé du fromage artisanal et du lait cru

Fromages artisanal	Isolement sur Baird Parker	Test de coagulase Lecture au bout de				Gram	Forme	Test de Catalase
		2h	4h	6h	18h			
Fr2 1	-	/	/	/	/	/	/	/
Fr2 2	+	-	-	-	+	-	Cocci en amas	+
Fr1 _{S1}	+	-	-	-	+	-	Cocci en amas	-
Fr1 _{S2}	+	-	-	-	-	-	Cocci en amas	+
Fr2 _{C1}	+	-	-	-	-	-	Cocci en chaînette	+
Fr2 _{C2}	-	/	/	/	/	/	/	/
SM1	+	-	-	-	+		Cocci en amas	+
SM2	-	/	/	/	/	/	/	/
SM3	+	-	-	-	+	-	Cocci en amas	+

+ : Positif, Gram+, - : Négatif, Gram -

Tableau XVII. Résultats des tests d'identification des entérocoques

Les Fromages	Isolement sur Slanetz	Test Eva Litsky	Gram	Forme	Test de catalase
Fr2 1	+	+	-	Cocci en amas	-
Fr1_{S1}	+	-	-	Cocci en amas	-
Fr2_{C1}	+	-	-	Cocci en chaînette	-
Petit 2	+	-	-	Cocci en chaînette	-
Quisto 1	-	/	/	/	/
Quisto 2	-	/	/	/	/

+ : Positif, - : Négatif

Tableau XVIII. Résultats des tests d'identification de la flore lactique isolée des fromages industriels

Les Fromages	Isolement sur gélose MRS	Gram	Forme	Test de catalase
Danino 1	+	+	Cocobacille isolé, en chaînette	-
Danino2	+	+	Cocobacille en amas, diplocoque	-
Danino 3	+	+	Bacille en chaînette et en amas	-
Danino aus fruit 1	+	+	Cocobacille en amas, diplocoque	-
Danino aux fruit2	+	+	Cocobacille en chaînette	-
Danino aux fruit3	+	+	Cocobacille en amas, diplocoque	-
Quisto1	+	+	Bacille libre et en amas	-
Quisto2	+	+	Cocobacille diplocoque isole en chaînette	-
Président 1	+	+	Cocobacille diplocoque ,en amas	-
Président 2	+	+	Cocobacille+bacille diplocoque , chaînette	-
Président 3	+	/	/	-
Subtile 1	+	+	Cocci isolé	-
Subtile 2	+	+	bacille en chaînette	-
Subtile 3	+	+	Cocobacille chaînette, grain	-
Lactel 1	+	+	Cocobacille en chaînette, en amas	-
Tigre Mirzana 1	+	+	Cocobacille en amas petite	-

Annexes

Tableau XIX .Résultats d'identification de la flore lactique isolée du fromage artisanal et du lait cru

Les Fromages	Isolement sur gélose MRS	Gram	Forme	Test de catalase
Fr2	+	+	Cocobacille +cocci	-
Fr2_{C1}	+	+	Cocobacille avec grain ,diplocoque	-
Fr2_{C2}	+	+	Petit cocobacille chaînette ,amas	-
Fr2_{C3}	+	+	Cocobacille ,cocci petite en chaînette ,amas	-
Fr1_{S1}	+	+	Cocobacille en amas, isolé ,diplocoque	-
Fr1_{S2}	+	+	Cocobacille en amas courte chaînette et en palissade	-
SM1	+	+	Cocobacille en amas, isolé, en chaînette	-
SM2	+	+	Cocobabacille en amas	-
SM3	+	+	Cocobacille isolé en chaînette ,amas ,diplocoque	+

Annexe II : Composition des milieux de culture

Tableau I. Bouillon MRS (pH 6,5 +/- 0,1) (Institut Pasteur d'Algérie)

Composition	La quantité pour 1L
-Extrait de levure	5g
-Extrait de viande	10g
-Peptone	10g
-Glucose	20g
-Tween 80	1ml
-Phosphate dipotassique	2g
-Acetate de sodium	5g
-Citrate triammoniacale	2g
-Citrate de sodium	2g
² &-Sulfate de magnésium	200mg
-Sulfate de manganèse	50mg

Ajouter 15g/l d'agar pour avoir une gélose MRS

Tableau II. Bouillon nutritif (BN) (pH 7,2) (Institut Pasteur d'Algérie)

Composition	La quantité pour 1L
-Extrait de viande	5g
-Peptone	10g
-Chlorure de sodium	5g

Tableau III. Bouillon cœur-cervelle (BHI) (pH 7,4+ /- 0,2) (Conda)

Composition	La quantité pour 1L
-Extrait de cœur-cervelle	17,5g
-Peptone pancréatique de gélatine	20g
-Chlorure de sodium	5g
-Phosphate dipotassique	2,5g
-Glucose	2g

Tableau IV. Bouillon SFB + Cystéine (pH 7+/-0,2) (Institut Pasteur d'Algérie)

Composition	La quantité pour 1L
-Peptone	5g
-Tryptone	5g
-Mannitol	4g
-Phosphate disodique	4g
-L.Cysteine	0,2g

Tableau V. Bouillon Roth (pH 6,9 +/- 0,1) (Institut Pasteur d'Algérie)

Composition	La quantité pour 1L
-Peptone de caséine	20g
-Extrait de viande	1,5g
-Glucose	04g
-Chlorure de sodium	04g
-Phosphate dipotassique	2,7g
-Phosphate monopotassique	2,7g
-Azide de sodium	0,2g

Tableau VI. Bouillon EVA LITSKY (pH 7 +/- 0,2) (Conda)

Composition	La quantité pour 1L
-Peptone	20g
-Glucose	5g
-Chlorure de sodium	5g
-Phosphate dipotassique	2,7g
-Phosphate monopotassique	2,7g
-Azide de sodium	0,4g
-Ethyl-violet	0,0008g

Tableau VII. Bouillon de Shubert (pH 7,6 +/-0,2) (Institut Pasteur d'Algérie)

Composition	La quantité pour 1L
-Peptone	10g
-Tryptone	10g
-Acide glutamique	0,2g
-Tryptophane	0,2g
-Sulfate de magnésium	0,7g
-Sulfate d'ammonium	0,4g
-Citrates de sodium	0,5g
-Chlorure de sodium	2g
-Mannitol	7,5g

Tableau VIII. Gélose nutritive (GN) (pH 6,8 +/- 0,2) (Liofilchem)

Composition	La quantité pour 1L
-Extrait de bœuf	1g
-Extrait de levure	2g
-Peptone	5g
-Chlorure de sodium	5g
-Gélose	15g

Tableau IX. Gélose Baird Parker (pH 7,2 +/- 0,2) (Liofilchem)

Composition	La quantité pour 1L
-Tryptone	10g
-Extrait de bœuf	5g
-Extrait de levure	1g
-Glycine	12g
-Pyruvate de sodium	10g
-Chlorure de lithium	5g
-Gélose	17g

Tableau X. Gélose Hektoen Enteric (pH 7,5 +/-0,2) (Liofilchem)

Composition	La quantité pour 1L
-Proteose-peptone	12g
-Lactose	12g
-Extrait de levure	3g
-Sels billiaires	9g
-Saccharose	12g
-Chlorure de sodium	5g
-Salicine	2g
-Thiosulfate de sodium	5g
-Citrate de fer ammoniacal	1,5g
-Fushine acide	0,1g
-Bleu de bromothymol	0,065g
-Gelose	15g

Tableau XI. Gélose VRBL (pH 7,4 +/- 0,2) (Conda)

Composition	La quantité pour 1L
-Lactose	10g
-Peptone	7g
-Chlorure de sodium	5g
-Extrait de levure	3g
-Sels billiaires	1,5g
-Rouge neutre	0,03g
-Cristal violet	0,002g
-Gélose	15g

Tableau XII. Gélose Slanetz et Bartley (pH 7,2 +/- 0,2) (BioKar)

Composition	La quantité pour 1L
-Tryptose	20g
-Extrait autolytique de levure	5g
-Glucose	2g
-Phosphate dipotassique	4g
-Azide de sodium	0,4g
-Chlorure de tetrazolium (TTC)	0,1g
-Gélose	10g

Tableau XIII. Gélose MRS (pH ,5 +/- 0,1) (Institut Pasteur d'Algérie)

Composition	La quantité pour 1L
-Peptone de caséine	10g
-Extrait de viande	8g
-Extrait de levure	4g
-Glucose	20g
-Phosphate dipotassique	2g
-Di ammonium citrate	2g
-Acétate de sodium	5g
-Sulfate de magnésium	0,2g
-Sulfate de maganèse	0,04g
-Agar	20g

Tableau XIV. Gélose E.M.B (pH 7,1 +/- 0,2) (Liofilchem)

Composition	La quantité pour 1L
-Peptone	10g
-Lactose	10g
-Phosphate dipotassique	2g
-Eosine	0,4g
-Bleu de méthylène	0,065g
-Gélose	15g

Tableau XV. Gélose P.C.A (pH 7 +/- 0,2) (Liofilchem)

Composition	La quantité pour 1L
-Tryptone	5g
-Glucose	1g
-Extrait de la levure	2,5g
-Gélose	15g

Tableau XVI. Gélose B.E.A (pH 7,3) (Institut Pasteur d'Algérie)

Composition	La quantité pour 1L
-Peptone de viande	10g
-Citrate de fer ammoniacal	1g
-Esculine	1g
-Bile de bœuf	3g
-Gélose	18g

Résumé

Le fromage est un produit d'excellente valeur nutritionnelle consommé par plusieurs populations dans le monde. Il en existe différents types en fonction de la technologie adoptée et dont la qualité se trouve liée. Dans cette étude, l'analyse de la qualité microbiologique de 33 échantillons de trois types de fromages (frais, fondus, pâte molle) vendus dans la région de Bejaïa et d'un fromage artisanal fabriqué au laboratoire, a permis leurs comparaisons du point de vue microbiologique tout en se basant sur leur procédés de fabrication. Les résultats obtenus révèlent des taux faibles de la flore indicatrice d'hygiène dans les fromages frais et fondus, alors que pour les pâtes molles, son taux est supérieur aux normes à cause de la période d'affinage. Quant à la flore pathogène, aucune salmonelle n'est retrouvée dans les échantillons analysés, le taux de *S. aureus* dans les fromages à pâte molle et fondus était supérieur aux normes en vigueur. La teneur en flore lactique était faible dans les fromages fondus, moyenne dans le fromage artisanal et les fromages à pâte molle et certains fromages frais. Cependant, le fromage artisanal n'a pas présenté la charge attendue en flore lactique et ceci serait dû à la réfrigération. Les fromages frais industriels étaient plus assainis que le fromage frais artisanal vu l'utilisation d'un traitement thermique (pasteurisation) du lait dans le premier cas. Les procédés d'hygiène et le diagramme de fabrication, l'équipement, conditions de fabrication et de conservation, matière première ont tous un impact sur la qualité microbiologique de nos fromages.

Mots-clés : Fromage frais, fondu, pâte molle, fromage artisanal, microbiologie, procédés technologique .

Abstract

Cheese is an excellent nutritional value product consumed by many people worldwide. There are different types depending on the technology adopted and whose quality is linked. In this study, analysis of the microbiological quality of 33 samples of three types of cheese (fresh, melted, soft dough) sold in the region of Bejaïa and artisanal cheese manufactured in the laboratory, allowed their comparisons from microbiological view while based on their manufacturing processes. The results show low levels of the indicator hygiene flora in fresh and melted cheese, while for soft dough; its rate is superior to the standards because of the ripening period. As for the pathogenic flora, no *Salmonella* is found in the samples analyzed; the rate of *S. aureus* in melted and soft dough cheese exceeded the current standards. The lactic flora content was low in melted cheese, average in artisanal and soft dough cheese and some fresh cheeses. However, the artisanal cheese has not presented the charge expected in lactic flora and this is due to refrigeration. Industrial fresh cheeses were more sanitized than the artisanal cheese for the use of heat treatment (pasteurization) of milk in the first case. The hygienic processes, the manufacturing diagram, equipment, production's and storage's conditions and raw material have an impact on the microbiological quality of our cheeses.

Key words: Fresh, melted, soft dough cheese, artisanal cheese, microbiology, technological processes