

REPUBLIQUE ALGERINNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE – ALGER

المدرسة الوطنية للبيطرة - الجزائر

PROJET DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLOME DE DOCTEUR VETERINAIRE

Analyse de la stabilité du fromage fondu

Présentée par : *TALAH Asma Amina*
RAZEM Asma

Soutenu le : 18 juin 2007

Le jury :

- **Président** : M^f GUEZLANE .L. Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire El-Harrach
- **Promoteur** : M^{me} CHAHED.A Chargée de cours à l'Ecole Nationale Vétérinaire El-Harrach
- **Examineur** : M^f HAMDI. M.T Chargé de cours à l'Ecole Nationale Vétérinaire El-Harrach
- **Examinatrice** : M^{me} CHORFI.N Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire El-Harrach

Année universitaire : 2006/2007



Remerciements



Ce travail n'aurait pu se réaliser sans l'aide de Dieu qui nous a donné volonté, courage et surtout patience, et celle de toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin.

Nos sincères remerciements s'adressent à

Notre chère promotrice CHAHED.AMINA pour avoir dirigé notre travail et pour son aide précieuse, son amabilité et ses encouragements et ses conseils qui nous ont permis de mener à bien ce mémoire.

Qu'elle trouve ici l'expression de toute notre gratitude et notre profond respect.

A Monsieur le Professeur, GUEZLANE LOUARDI Le Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'avoir bien voulu nous faire l'honneur d'accepter de présider notre aimable jury.

A Monsieur HAMDI.M et M^{me} CHORFI d'avoir fait partie de ce jury et leur bienveillance quant à l'examen de ce travail.

Nous remercions vivement tout le personnel ainsi que le directeur du Centre Algérien de Contrôle de Qualité et de l'Emballage Mr. AMRANE pour leur aide et accueil chaleureux pendant toute la durée de notre stage pratique.

Nous tenons à remercier également le gérant de la fromagerie MAGIVACHE pour sa collaboration et son aide.

Nous remercions sincèrement tous les enseignants de l'Ecole Nationale Vétérinaire EL-HARRACHE pour tout le savoir qu'ils nous ont transmis.

Sans oublier de remercier tous le personnel de la salle d'informatique et de la bibliothèque de l'école nationale vétérinaire.

Enfin, nous remercions tous ceux qui nous ont encouragé tout au long de notre parcours.

Les deux ASMA



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à

A ma mère qui a veillé de rendre mes jours comme les fleurs et mes nuits comme les jours pour que je soie toujours en bonheur

A mon père qui a fait de moi ce que je suis parvenu à être aujourd'hui avec ses conseils, il m'a éclairé le chemin durant toute ma vie.

A ma grand-mère maternelle à qui je dois redevance pour le rôle essentiel qu'elle a jouée tout au long de mon cursus. Que dieux nous la préserve.

A mon unique et très chère sœur CHAYMA.

A mon cher frère MOHAMED ZAKARIA.

A toute la famille TALAH

A mes deux oncles maternels ABDELMALEK et ABDELHAK pour leur soutien.

A ma chère petite cousine KARIMA

A mon très cher binôme ASMA que j'estime énormément.

A mon amie préférée qui ne m'a jamais délaissée LEILA BOUKHROFA.

A toutes mes copines surtout AMELIA, FOUZIA, et MOUNI.

A l'adorable Palestinienne RYMA.

A LA 30^{ème} promotion sortante de l'ENV.

En fin pour toutes les personnes que j'aime.

TALAH. ASMA



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à,

A ma chère mère qui a veillé de rendre mes jours comme les fleurs et mes nuits comme les jours pour que je sois toujours en bonheur.

A mon père qui a fait de moi ce que je suis parvenu à être aujourd'hui avec sa bien vaillance, il m'a éclairé le chemin durant toute ma vie, malgré de loin.

A mon unique et chère grande sœur FAÏZA pour son aide et ses conseils et à son mari ALI

A mon grand frère ABDELHAKIM et mon très cher petit frère ABDELKADER,

A mon très cher petit chouchou, mon neveu Med EL WALID.

A mon très chère binôme et amie « ASMA » que j'adore.

A ma copine de l'enfance et de toujours DEBIACHE HOURIA.

A toutes mes amies surtout à l'adorable palestinienne RYMA et LAMIA.Z

A notre 30^{me} promotion sortante de l'ENV.

En fin pour toutes les personnes qui m'aiment et que j'aime et que j'ai oublié de citer.

R. Asma

Sommaire

| | |
|-----------------|---|
| Préambule | 1 |
|-----------------|---|

Partie bibliographique

Chapitre 1 : propriété et procédés de fabrication du fromage fondu

| | |
|---|----|
| I. Historique..... | 4 |
| II. Définitions..... | 5 |
| III. Norme pour Codex alimentarius..... | 5 |
| IV. Fabrication du fromage fondu..... | 6 |
| IV.1. Du lait au fromage..... | 6 |
| IV.2. La technologie du fromage fondu..... | 6 |
| IV.2.1. Matière première..... | 6 |
| IV.2.1.1. Sélection et formulation..... | 7 |
| IV.2.1.2. Matière première laitière | 7 |
| IV.2.1.3. Autre matière première laitière..... | 8 |
| • Matière grasse laitière..... | 8 |
| IV.2.1.4. autre matière première..... | 8 |
| IV.2.2. Additifs : les sels de fonte..... | 8 |
| IV.2.2.1. Définition des sels de fonte..... | 8 |
| IV.2.2.2. Différents types de sel de fonte..... | 9 |
| • Les polyphosphates..... | 9 |
| • Les citrates..... | 9 |
| IV.2.2.3. Propriétés des sels de fonte..... | 9 |
| • Le pouvoir complexant..... | 9 |
| • Le pouvoir tampon..... | 9 |
| • L'effet bactériostatique..... | 10 |
| IV.2.2.4. Mode d'action des sels de fontes..... | 10 |
| IV.2.2.5. Autres additifs..... | 10 |
| • Autres sels de fontes..... | 10 |
| • Autres agents technologiques..... | 11 |
| IV.2.3. Eau..... | 11 |
| IV.3 .Technologie de la fonte..... | 11 |
| IV.3.1. Principe de base..... | 11 |
| IV.3.2. Les phases de fontes..... | 12 |
| IV.3.2.1. La phase de péptisation..... | 12 |
| IV.3.2.2. Le «crémage» la phase de restructuration..... | 13 |
| IV.4. Process de fabrication du fromage fondu..... | 13 |
| IV.4.1. Sélection des matières premières et contrôle qualité..... | 13 |
| IV.4.2. Ecroûtage découpage et broyage des fromages..... | 14 |
| IV.4.3. Préparation de la formule..... | 14 |
| IV.4.4.Cuisson..... | 14 |
| IV.4.5. Crémage..... | 15 |
| IV.4.6. Homogénéisation..... | 15 |
| IV.4.7.Conditionnement..... | 15 |
| IV.4.8. Refroidissement..... | 15 |
| IV.4.9. Stockage du produit..... | 16 |
| IV.4.10. Conservation du fromage fondu..... | 16 |

Chapitre 2 .Facteurs influençant la stabilité du fromage.

| | |
|--|----|
| I. Facteurs de croissance et de survie des microorganismes..... | 17 |
| I.1. Le pH..... | 17 |
| I.2. La température..... | 17 |
| I.3. L'oxygène..... | 17 |
| I.4. L'eau..... | 18 |
| I.5. Substances nutritives..... | 18 |
| I.6. Energie..... | 18 |
| I.7. Les ions inorganiques..... | 18 |
| II. Principaux microorganismes affectant la salubrité et de sécurité des denrées alimentaires..... | 18 |
| II. Les Staphylocoques..... | 18 |
| II.2. Les Clostridies..... | 19 |
| II.3. Les Salmonelles..... | 19 |
| II.4. Listeria..... | 19 |
| II.5. Coliformes..... | 19 |
| III. Les sources de la contamination..... | 20 |
| III.1. Matière première..... | 21 |
| III.2. Milieu..... | 21 |
| III.3. Méthodes..... | 21 |
| III.4. La main d'œuvre..... | 22 |
| III.5. Le matériel..... | 22 |

Chapitre 3 : Validation et nouvelle approche de la durée de vie microbiologique.

| | |
|--|----|
| I. Définitions..... | 24 |
| I.1. Durée de vie microbiologique..... | 24 |
| I.2. Qu'est ce qu'un danger ? | 24 |
| I.3. Qu'est ce qu'un danger microbiologique ? | 24 |
| I.4. Qu'est ce que un risque microbiologique ? | 24 |
| I.5. Qu'est ce qu'une DLC..... | 24 |
| I.6. Qu'est ce qu'une DLUO..... | 24 |
| II. Facteurs liés à la denrée alimentaire..... | 25 |
| II.1.Facteurs intrinsèques..... | 25 |
| II.2. Facteurs extrinsèques..... | 25 |
| III. Utilisation de méthodes d'analyses microbiologiques..... | 25 |
| III.1. Méthodes qualitatives..... | 25 |
| III.2. Méthodes quantitatives..... | 25 |
| IV. Détermination de la durée de vie microbiologique des aliments..... | 26 |
| IV. 1. Étapes préalables..... | 26 |
| IV.2 Conditions de validation de la durée de vie microbiologique..... | 27 |
| IV. 3. Modalités pratiques pour la validation de la durée de vie microbiologique des aliments périssables..... | 27 |
| IV. 3.1. Tests de vieillissement..... | 27 |
| IV.3.1.1 Définition..... | 27 |
| IV.3.1.2. Intérêts..... | 28 |
| IV.3.1.3. Les protocoles de réalisation des analyses à la DLC ou tests de vieillissement..... | 28 |
| IV.4.Tests de croissance ou «Challenge Tests »..... | 28 |
| IV.4.1. Définition..... | 28 |
| IV. 4. 2. Bases réglementaires..... | 29 |
| IV.4.3. Intérêt..... | 29 |
| IV.4.4. protocole..... | 30 |

Partie expérimentale

| | |
|--|----|
| I. But..... | 31 |
| II. Lieu de fabrication du fromage fondu..... | 31 |
| III. Les prélèvements..... | 31 |
| IV. Lieu d'analyses..... | 32 |
| V. Méthodologie de recherche..... | 32 |
| V.1. Tests de vieillissements..... | 32 |
| V.1.1. Analyses microbiologiques..... | 33 |
| - Matériels utilisé | 33 |
| -Prélèvements..... | 33 |
| - Méthodes d'analyses..... | 34 |
| • Recherche des salmonelles : Normes ISO 6888 et NA 15164 (2004)..... | 34 |
| • Recherche des coliformes : Norme ISO 4832..... | 34 |
| • Recherche des staphylocoques : Normes ISO 6579 et NA 1203 (1990)..... | 34 |
| • Recherche des clostridies : Norme ISO 15213 2003..... | 34 |
| V.1.2. Analyses physicochimiques..... | 35 |
| - Matériel utilisé..... | 35 |
| - Méthodes d'analyses :..... | 35 |
| • Dosage de l'extrait sec ou matière sèche..... | 36 |
| • Dosage de la matière grasse : (NA 1933-1990)..... | 36 |
| • Dosage du pH..... | 36 |
| • Dosage de l'humidité..... | 37 |
| • Dosage des protéines NA 2709- 1992..... | 37 |
| V.2. Evaluation de l'hygiène de l'environnement..... | 37 |
| V.3. Tests de croissance ou challenge tests..... | 38 |
| • Rappel de la définition :..... | 39 |
| • Protocole réalisé..... | 39 |
| VI. Résultats..... | 39 |
| VI.1 Résultats des tests de vieillissement..... | 39 |
| VI.1.1 Résultats des analyses microbiologiques..... | 39 |
| VI.1.2. Résultats des analyses physicochimiques..... | 40 |
| VI.2. Comptage des colonies pour l'évaluation de la qualité bactériologique de l'ambiance..... | 41 |
| VI.3. Résultats des tests de croissance après inoculation expérimentale..... | 42 |
| VII. Discussion et interprétation..... | 44 |
| Conclusion..... | 50 |
| Références bibliographiques | |
| Annexes | |

Liste des tableaux :

| | |
|---|----|
| Tableau 1 : facteurs de développement des principaux microorganismes..... | 20 |
| Tableau 2 : Résultats des analyses bactériologiques..... | 39 |
| Tableau 3 : Résultats des analyses physicochimiques..... | 40 |
| Tableau 4 : Résultats des dénombrements pour l'évaluation de l'hygiène de l'ambiance..... | 41 |
| Tableau 5 : Résultats en \log_{10} ufc/g des tests de croissance..... | 42 |
| Tableau 6 : Résultats des dénombrements de l'inoculum en \log_{10} ufc/g par semaine..... | 42 |
| Tableau 7 : Interprétation des valeurs de tolérance..... | 49 |

Listes des figures :

| | |
|---|----|
| Figure 1 : schéma récapitulatif des facteurs influençant la stabilité du fromage..... | 23 |
| Figure 2 : principe général du challenge test..... | 30 |
| Figure 3 : Photos personnelles (dessiccateur, balance, laboratoire du CACQE, 2007)..... | 35 |
| Figure4 : Photos personnelles (butyromètre, bain marie, Laboratoire du CACQE, 2007)..... | 35 |
| Figure 5 : Photo personnelle (pH mètre, laboratoire du CACQE, 2007)..... | 36 |
| Figure 6 : Photos personnelles (Dosage des protéines, appareil de KJELDAHL laboratoire du . CACQE, 2007) | 36 |
| Figure 7 : Photos personnelles (évaluation de l'hygiène, fromagerie MAGIVACHE, 2007)..... | 37 |
| Figure 8 : Photos personnelles (réalisation du challenge tests, laboratoire du CACQE, 2007)... | 38 |
| Figure 9: Photos personnelles : résultats des contaminations aéroportées (hygiène de l'ambiance) (Laboratoire du CACQE, 2007)..... | 41 |
| Figure 10: Courbe de suivi du développement de la bactérie dans le fromage par semaine..... | 43 |

PRÉAMBULE

Aliment complet par excellence, le lait a été le premier aliment et médicament de l'être humain et reste au cœur de son alimentation tout au long de sa vie. Présent dès les premiers moments de la vie, Le lait est un aliment parfaitement adapté aux besoins nutritionnels et physiologiques du jeune. Il couvre les besoins énergétiques, structuraux et fonctionnels et contribue à défendre l'organisme contre les agressions bactériennes et virales en augmentant les défenses immunitaires du nouveau né.

⇒ *Du lait aux produits laitiers,*

Le lait est une matière première qui peut être transformée en une multitude de produits aux textures et saveurs variées : traditionnellement des fromages de garde conçus il y a plusieurs siècles pour assurer le report des éléments essentiels du lait dans les régions où la production de lait était saisonnière. Aujourd'hui des nouveaux produits ont été développés pour générer de la diversité organoleptique répondant aux attentes des consommateurs tout en préservant les éléments constitutifs d'intérêt nutritionnel (protéine et lipides)

Le lait constitue un gisement de molécules variées Il renferme des protéines, acides gras, lactose, calcium, phosphore, vitamines A, D, vitamines du groupe B. (www. Academie-technologies.fr consulte le 06/06/2007).

Ainsi, La famille des produits laitiers regroupe un grand nombre d'aliments :

- Les laits (stérilisés, cru, UHT, concentré...);
- Les fromages ;
- Les yaourts et les laits fermentés ;
- Les crèmes et desserts lactés.

⇒ *Problématique et durée de vie du produit:*

Les réglementations nationales et internationales en vigueur précisent clairement que « les produits doivent, dans des conditions normales d'utilisation ou dans d'autres conditions raisonnablement prévisibles par les professionnels présenter la sécurité à laquelle on peut légitimement s'attendre et ne pas porter atteinte à la santé des personnes ». Afin de préserver l'innocuité des produits jusqu'au moment de leur consommation, il est de la responsabilité de l'exploitant de déterminer les différentes conditions, notamment de température, de transport et d'entreposage et de durée de conservation des denrées concernées. Ces indications doivent figurer sur l'étiquette ou pouvoir être

communiquées de façon adéquate aux destinataires des produits (distributeurs, consommateurs) (AFSSA, 2005)

La détermination des durées de vie des produits (Date limite de consommation DLC ou date limite d'utilisation optimale DLUO) est donc établie sous la stricte responsabilité de l'industriel. (Règlement (CE), 2073/2005).

Il appartient à ce dernier de valider ces dates par des études de vieillissement pendant la conservation (suivi de la flore naturelle du produit au cours du temps) et des tests d'épreuve de croissance ou challenge-test qui apportent des informations supplémentaires par la simulation d'une contamination accidentelle, ciblée, de la matière première ou du produit, survenue au cours de la fabrication ou de la conservation. (www.pasteur-lille.fr consulté le 16/11/2006)

De nouvelles approches scientifiques et plus objectives sont nées de ces études. Elles répondent aux nouvelles réglementations en matière de sécurité alimentaire et d'échanges commerciaux. L'étude de la stabilité des produits, permet de déterminer et de prolonger, la durée de vie d'un produit périssable.

Pour ce faire, il est important de se poser les questions suivantes.

- Quelles sont les paramètres qui la déterminent ? Etudes de vieillissement
- Comment la valider? Challenge test

⇒ **Objectifs :**

Notre projet de fin d'études porte sur l'étude de la stabilité du fromage de l'ancien français «fromage» du latin *formatius*, c'est à dire dans une forme. L'objectif est de confirmer si la stabilité du fromage fondu fabriqué par une industrie fromagère installée en Algérie est conforme à la durée de vie qui a été établie par le producteur. Cette étude est une application pratique des nouvelles approches qui permettent à l'industriel de mieux maîtriser son produit tout au long de sa conservation.

La production de fromage, de crème, de beurre est limitée dans les pays en développement par de nombreux facteurs. Toutefois, si le marché existe, ces produits peuvent être vendus à des prix permettant de rentabiliser la structure de production. Ces produits apportent des éléments nutritifs essentiels à moindre coût. La conservation des fromages est plus facile que la conservation du lait cru car leur moindre teneur en eau limite le développement microbien. De plus ils sont parfois fabriqués avec du lait pasteurisé ou du lait reconstitué qui accroît encore leur stabilité.

Dans les cas où.

- Le produit est altéré avant la date limite de consommation prévue par l'industriel, des mesures correctives lui seront recommandées.
- Le produit est stable au-delà de la date prévue par l'industriel, des conseils et une assistance lui permettront de prolonger la durée de vie de son produit dans le commerce.

C'est dans ce cadre que s'inscrit notre étude

La stabilité telle que définie, permet de conserver le produit en respectant ses caractéristiques organoleptiques et nutritionnelles. Elle assure la sécurité et la salubrité pour la maîtrise des agents pathogènes et des agents d'altération.

I. HISTORIQUE ET EVOLUTION DU FROMAGE FONDU

Si l'histoire des produits laitiers se confond avec celle de l'humanité, celle des fromages fondus est beaucoup plus récente, car elle a commencé au début de notre siècle.

En 1911, la société suisse Gerber commercialise, la première, un fromage fondu à base d'emmental. Un procédé inventé par Walter Gerber et Fritz Stetter permet de transformer la pâte finement granuleuse en une émulsion stable. Le but est d'obtenir des fromages de longue conservation.

En 1917, les frères Graf créèrent la première usine en Europe, à Dôle (Jura).

En 1929, la découverte des polyphosphates comme sel de fontes émulsifiantes, signe l'essor des fromages à tartiner. De nouvelles textures sont possibles. Apparaît alors une nouvelle génération de fromages fondus.

Avec les années, les techniques de fabrication n'ont cessé d'évoluer. Les fabricants font preuve d'audace et d'imagination, maîtrisant de mieux en mieux les process. Aujourd'hui, les fromages fondus sont élaborés à partir de différentes sortes de fromages, auxquels on ajoute d'autres ingrédients : lait, crème, beurre, épices, arômes

Pour les conditionnements sont apparus à côté des triangles, des formats carrés et cylindriques.

Tandis que les fromages à tartiner se mettaient en boîte ou en barquette, de petites bouchées vinrent occuper un terrain jusque là peu fréquenté par les fromages : l'apéritif. Enfin, les fromages fondus ont occupé une place importante en restauration collective. Lentement mais sûrement, la benjamine des familles de fromages s'imposa sur la table. (www.cniel.com, consulté le 11/11/2006)

Dans les pays en voie de développement, le fromage fondu est considéré comme source de protéine à moindre coût.

II. DEFINITIONS

Par définition, le fromage fondu est un produit obtenu par le mélange de fromages de différentes origines et à différents stades d'affinage avec des sels de fontes. Ce mélange est broyé puis chauffé sous vide partiel et sous agitation constante, jusqu'à obtention d'une masse homogène qui est conditionnée dans un emballage protecteur.

On peut ajouter d'autres matières d'origine laitières (beurre, poudre de lait) ou incorporer des ingrédients aromatiques. Le produit obtenu est homogène, stable et se conserve parfaitement dans le temps. Ses principaux avantages sont :

- La stabilisation du produit par traitement thermique, ce qui lui confère d'excellentes qualités de conservation et permet sa commercialisation même dans des climats chauds.
- Une amélioration des qualités organoleptiques : goût doux, texture homogène, une onctuosité.
- Une excellente valeur nutritionnelle du fait de l'origine laitière des matières premières utilisées
- De grandes aptitudes commerciales : produit à large possibilité de présentation (en portions, en barres, en tube et autres...), d'usage et d'aromatisation; le produit peut être consommé à tout moment de la journée, à froid comme à chaud, pour le grignotage, le tartinage ou la cuisine. (ECK et GILLIS, 1997)

Le fromage fondu est aussi un produit périssable, dont les altérations se développent par voies microbienne, chimique et/ou enzymatique. De ce fait une des préoccupations constantes de l'homme a, de tout temps, été de chercher à prolonger sa durée de vie de manière à en différer dans le temps la consommation. (www.fao.org, consulté le 15/03/2006)

III. NORMES DU CODEX ALIMENTARIUS POUR LE FROMAGE FONDU

La Commission du Codex Alimentarius a été créée en 1963 par la FAO et l'OMS afin d'élaborer des normes alimentaires. Les buts principaux de ce programme sont la protection de la santé des consommateurs, la promotion de pratiques loyales dans le commerce des aliments et la coordination de tous les travaux de normalisation ayant trait aux aliments entrepris par des organisations aussi bien gouvernementales que non gouvernementales. (www.codexalimentarius.net consulté le 02/02/2006)

(Normes pour le fromage fondu : Réglementation et normes)

IV. FABRICATION DU FROMAGE FONDU

IV.1. Du lait au fromage

Le processus fromager débute avec la préparation du lait. Les deux étapes principales de l'élaboration d'un fromage sont ensuite la coagulation et l'égouttage suivis accessoirement de l'affinage après salage. La préparation du lait comprend éventuellement une phase de traitement thermique du lait voire une étape de maturation. Le fromager peut également ajuster les taux de matières grasses (écrémage partielle, apport de matière grasse) et azotées (ajout de poudre de lait), éventuellement ceux des minéraux avant la fabrication ;

La coagulation peut se produire sous l'effet de l'acidification (caractère lactique) dans le cas des fromages frais ou par apport d'enzymes coagulantes (caractère présure) ou encore les deux (coagulation mixte). Elle conduit à l'obtention d'un gel ;

L'égouttage est l'étape de séparation du caillé (phase solide) et du lactosérum (phase liquide composée d'eau et des matières solubles que sont le lactose, les sels minéraux et les protéines solubles).

Le salage peut être fait dans la masse (salage des grains de caillé), en surface (salage à sec) ou dans un bain de saumure. Il complète l'égouttage et contribue à la formation de la croûte. Il agit directement ou par intermédiaire de l'activité de l'eau du fromage (A_w) sur le développement de microorganismes et sur les activités enzymatiques au cours de l'affinage. Il apporte son goût caractéristique et a la propriété de masquer ou exhiler la sapidité de certaines substances formées au cours de l'affinage ;

L'affinage est le stade ultime du processus, il consiste en une digestion enzymatique du caillé sous l'action des agents coagulants et des microorganismes et conduit à l'obtention d'un fromage affiné. (www.inra.fr, consulté le 05/04/2006)

IV.2. La technologie du fromage fondu.

IV.2.1. Matières premières :

IV.2.1.1 Sélection et formulation :

Le maître fromager dispose de toute une palette de matières premières, chacune est caractérisée par son goût, sa composition, sa structure, sa qualité, sa régularité, sa disponibilité et son coût.

Tout l'art consiste à s'appuyer sur ces caractéristiques et propriétés pour associer les différentes variétés qui sauront se compléter harmonieusement. (ECK et GILLIS, 1997)

Les matières premières mises en œuvre sont soumises à de stricts contrôles tant du point de vue chimique, que bactériologique et organoleptique. Les fromages sont sélectionnés essentiellement sur leur degré d'affinage qui renseigne sur la proportion de protéines natives et sur le potentiel aromatique. La formulation consistera, à partir des matières premières choisies, à fabriquer un produit à teneur définie en protéines, matières grasses, lactose, minéraux et oligo-éléments.

En respectant les exigences de fabrication on peut obtenir une palette infinie de fromages fondus présentant un pourcentage de 30 à plus de 60 %, un gras sur sec (G/S) de 15 à plus de 70 %, ce qui permet l'obtention de produits dont une large gamme de textures: (ECK et GILLIS, 1997) :

- fluide à ferme,
- tartinable à tranchable,
- onctueux à «croquant».

IV.2.1.2. Matières premières laitières

Elles représentent la majeure partie des matières premières utilisées en fonte

Les fromages naturels : Une sélection adaptée des fromages naturels est primordiale pour garantir la fabrication d'un fromage fondu de qualité. La fabrication de fromage fondu est faite parfois à partir d'une seule variété de fromage à différents degrés d'affinage : parmi les plus utilisés, on peut citer : le cheddar et le gruyère, ou à partir d'un mélange de différentes variétés de fromages naturels dont les critères de sélection sont : le type, la flaveur, la maturité, la consistance, la texture et l'acidité. L'utilisation de fromages naturels présentant des défauts microbiologiques et tout spécialement les fromages dits « chargés » en germes sporulés gazogènes et pathogènes est à éviter eu égard aux risques entraînés sur la qualité finale du produit. (ECK et GILLIS, 1997)

IV.2.1.3. Autres matières premières laitières

D'autres matières premières d'origine laitières sont utilisées pour la fabrication de fromage fondu. Parmi les principales matières premières utilisées, on peut citer : les concentrés protéiques laitiers obtenus par ultrafiltration (cheese-base), les poudres de lait écrémées, le lactosérum, le lactose, les caséines-caséinates, les protéines de sérum et co-précipité qui présentent un intérêt particulier car elles permettent de réguler les excédents et apportent des constituants notamment protéiques non dégradés par l'affinage.

En outre, elles améliorent la tartinabilité et la stabilité du fromage fondu, mais elles ne doivent pas être utilisées en quantité trop importante sous peine d'affecter la consistance du produit ou d'être à l'origine de réactions de Maillard. L'apport de protéines de sérum est possible, mais à de faibles taux ne devant en général pas excéder 5 % (de la formule).

De même, des études récentes ont été menées sur l'utilisation de nouvelles matières premières spécifiques à la fabrication du fromage fondu. A titre d'exemple, on peut citer : la substitution de fromages naturels par des caséinate de calcium, l'utilisation de « cheese-base » à partir de rétentats maturés mis au point pour cette utilisation, de fromages à affinage accéléré ou de concentrés apportant des arômes fromagers (« enzymes modified cheeses ») (ECK et GILLIS, 1997)

- La matière grasse laitière

L'incorporation de matière grasse laitière est fréquente pour ajuster la teneur finale en matière grasse du produit et lui conférer des qualités organoleptiques notamment aromatiques agréables. Elle se fait essentiellement sous forme de beurre, de crème ou autres présentations commerciales. (ECK et GILLIS, 1997)

IV.2.1.4. Autres matières premières

Parfois on utilise essentiellement à de fins économiques et nutritionnelles des matières grasses végétales en substitution totale ou partielle de la matière grasse laitière, voire des protéines végétales concentrées (isolats de soja, gluten...)

Dans ce cadre, les produits obtenus ne peuvent prétendre à la dénomination fromage. (ECK et GILLIS, 1997)

IV.2.2. Additifs : Les sels de fonte

IV.2.2.1. Définition des sels de fonte

Ce sont des substances qui dispersent les protéines contenues dans le fromage entraînant ainsi une répartition homogène des matières grasses et des autres composants.

(www.baganw.admin.ch, consulté le 25/09/2006)

IV-2-2-2 Les différents types de sels de fonte

- Les polyphosphates: (Poly phosphates de sodium et Orthophosphates de sodium).

Les monophosphates plus communément appelés orthophosphates ces phosphates alcalins constituent d'excellents tampons pour le pH. Les polyphosphates linéaires sont obtenus à partir d'orthophosphates très pur par condensation à haute température (diphosphates et triphosphates).

Sur le plan de la fonte du fromage, les diphosphates anciennement appelés pyrophosphates, se distinguent nettement des autres polyphosphates par leur pouvoir de « crémage » considérable.

Les polyphosphates supérieurs au contraire, ont un faible pouvoir de « crémage » mais sont d'excellent séquestrant du calcium. (ECK et GILLIS, 1997).

- Les citrates : Acides citriques : (Citrates de sodium et Acides citrique).

Ce sont de bons séquestrants du calcium mais ils n'ont aucune action structurante au cours du « crémage » ce qui ne permet pas l'obtention d'une pâte fondue courte recherchée dans les fromages fondus à tartiner. Ils sont souvent à l'origine de défauts de marbrure dus en générale à des cristallisations avec le calcium. (ECK et GILLIS, 1997)

IV.2.2.3 Propriétés des sels de fonte

Les principales propriétés pour lesquelles les sels sont utilisés en fonte sont les suivantes :

- *Le pouvoir complexant ou chélatant*

Dans le cas du fromage fondu, les sels de fonte vont extraire le calcium du réseau protéique et permettre son « déverrouillage » sous une forme favorable à son hydratation. Les protéines ainsi « débobinées » vont jouer le rôle d'émulsifiants à l'interface du globule gras par leurs propriétés amphiphiles et permettre la formation d'émulsion. (ECK et GILLIS, 1997)

- *Le pouvoir tampon*

L'ajustement du pH d'une formule de fromage fondu constitue une étape importante dans le procédé de fabrication. La plage de pH tolérée se situe entre 5,2 et 6,2 en dehors de laquelle les qualités de texture et de consistance ne peuvent pas être atteintes. Les différents sels de fonte permettent, par leur pouvoir tampon, d'ajuster le pH du produit à la bonne valeur.

(ECK et GILLIS, 1997)

- *L'effet bactériostatique*

Contrairement aux citrates, les phosphates possèdent un effet bactériostatique qui ralentit le développement des micro-organismes. Ce pouvoir est supérieur pour les polyphosphates comparativement à celui des orthophosphates. On peut notamment expliquer ceci par le fait que le calcium complexé par les sels de fonte n'est plus disponible pour les micro-organismes.

Dans la pratique, le taux maximal de sels de fonte autorisé varie selon les pays jusqu'à 3 % dans la formule. (ECK et GILLIS, 1997).

IV.2.2.4. Autres additifs

- *Autres sels de fonte*

D'autres sels peuvent être employés tels que les sels de l'acide tartrique ou les sels des acides citriques et phosphoriques autres que les sels de sodium mais ils ne sont pas utilisés dans la pratique.

Des sels de potassium tels que le citrate tri potassique, le phosphate di potassique et le pyrophosphate tétrapotassique peuvent être utilisés en remplacement des sels de sodium, dans le but d'abaisser le taux de sodium dans les fromages hyposodés. (ECK et GILLIS, 1997)

- *Autres agents technologiques*

- Les colorants : ils sont essentiellement utilisés dans les pays anglo-saxons pour conférer au produit une couleur jaune-orangé. Il s'agit essentiellement de la bixine, du carotène.

- Les hydrocolloïdes : il s'agit de polymères glucidiques dont on se sert pour améliorer la consistance et la stabilité, pour garantir une texture fine et éviter toute exsudation d'eau. Parmi les gommes les plus utilisées, on peut citer les carraghénanes, le guar, la caroube, la gomme xanthane.

- Les conservateurs : l'acide sorbique, l'acide propionique et leurs sels peuvent être utiles dans le cas de tranches comme agents anti- moisissures.

De façon générale, l'emploi de conservateurs ne se justifie pas pour les produits traités à haute température et emballés dans des conditions favorables. (ECK et GILLIS, 1997).

IV.2.3. Eau

L'eau joue un rôle important en tant qu'aliment de base et comme matière de reconstitution des aliments. Elle intervient également dans le nettoyage et véhicule souvent agent des germes dangereux. Les eaux utilisées en industrie alimentaire doivent répondre aux critères d'eau potable. L'eau n'est potable que si elle ne contient pas en quantité dangereuse, ni substances chimiques, ni microorganismes nocifs pour la santé. (www.cimed.org, consulté le 24/01/2007)

L'eau a une incidence directe sur la fermeté du fromage, donc sur la texture. De plus, l'eau est un facteur déterminant de la conservation d'un fromage. La teneur en humidité des fromages peut être un moyen de classer les fromages : un fromage fondu peut contenir jusqu'à 60 % ou plus d'eau (système canadien d'inspection des aliments, 2002)

L'eau est essentielle à la survie des microorganismes et influence leur croissance. Plus la teneur en eau dans les fromages est grande, plus rapide sera l'hydrolyse des caséines, de la matière grasse et du lactose par les enzymes microbiennes, ce qui aura également un effet sur la flaveur du fromage. Le fromage doit avoir une teneur en humidité précise pour acquérir à un moment donné les caractéristiques sensorielles recherchées. Si cette dernière est élevée, elle peut aussi entraîner l'apparition de défauts de saveur et de texture et nuire à la qualité du produit fini. L'eau contribue également au rendement fromager. Plus la teneur en eau dans un fromage est élevée, plus le rendement fromager est élevé. (CAROLE et VIGNOLA, 2002).

IV.3. Technologie de la fonte

IV.3.1. Principes de base

Le processus de fonte des fromages a pour fonction de transformer, à la chaleur et avec l'aide d'un sel de fonte approprié, le gel de paracaséine insoluble en un sol de paracaséine, c'est-à-dire de le faire passer à un état homogène et fluide où la masse de fromage peut être pasteurisée et, finalement coulée, correctement et emballée sans être contaminée. Après le refroidissement, le sol se retransforme en un gel qui se distingue du gel initial par une grande homogénéité et sa stabilité physico-chimique et bactériologique. Le sol intermédiaire, tout comme le gel obtenu par refroidissement à la fin du processus de fonte, peut avoir selon le choix des nombreux paramètres de réaction, une consistance et une structure très différente.

En ce qui concerne les principes de chimie des colloïdes appliqués à la fabrication des fromages fondus, de nombreuses communications traitant de ce sujet sont parues au cours de ces dernières années. Toutefois, toutes les étapes ne sont pas encore connues jusqu'à présent. (LUQUET, 1990)

IV.3.2. Les phases de la fonte:

IV.3.2.1. La phase de peptisation (destruction de la masse protéique initiale)

Les fromages naturels sont constitués par la juxtaposition de granules de caillé composée de protéines et de globules gras. La zone externe du granule est composée essentiellement de substances protéiques, la zone interne d'une proportion plus importante de matières grasses.

Après avoir broyé finement les matières premières fromagères et dès mise en contact avec l'eau et les sels de fonte, on assiste au démarrage de l'étape de déstructuration. Cette étape va se poursuivre et s'accroître lors du traitement thermique. Les sels de fonte chélatent le calcium lié aux protéines et transforment ainsi le paracaséinate de calcium insoluble en paracaséinate de sodium soluble.

Après l'échange du calcium contre du sodium, les chaînes peptidiques sont en partie déroulées et dissociées : c'est le stade de peptisation.

Parmi les sels de fonte, les polyphosphates ont l'action chélatante la plus importante; ils vont former avec le calcium piégé des combinaisons très stables.

La déstructuration chimique aboutissant à la peptisation des caséines concerne dans un premier temps les ponts calcium intermoléculaires externes, pour se poursuivre au cours du processus de fonte par l'attaque des ponts intramoléculaires. Le mélange fromager initial est transformé lors de cette étape en une solution colloïdale homogène.

Les protéines moins calcifiées sont devenues plus hydrophiles ce qui induit une augmentation de la viscosité de la phase aqueuse. Parallèlement et sous l'action de la température et de l'agitation, la matière grasse est dispersée dans la solution colloïdale et stabilisée par la formation à l'interface des gouttelettes lipidiques formées, d'une membrane protéique incluant les protéines précédemment peptisées.

Les caséines possèdent des zones hydrophiles et hydrophobes qui leur confèrent un caractère émulsifiant qui augmente quand les sels de fonte ont séquestré le calcium. Il est donc indispensable d'avoir une quantité suffisante de caséines dans le mélange pour avoir une bonne émulsification.

(ECK et GILLIS, 1997)

IV.3.2.2. Le «crémage» ou phase de restructuration

Simultanément au processus de déstructuration et au cours des étapes de chauffage et de crémage, de nouvelles interactions inter intra protéiques apparaissent.

L'étape de crémage correspond à un épaississement du produit qui a deux origines :

- La peptisation des protéines, qui permet l'hydratation des chaînes, aboutit à un gonflement du milieu et à une augmentation de la viscosité. En effet, le déroulement des chaînes protéiques et l'augmentation de charges négatives conférées aux molécules protéiques par les anions polyvalents des sels de fonte (disparition des ponts calciques et fixation des anions) augmentent le caractère hydrophile des groupements latéraux polaires. Ceci permet une hydratation importante des protéines ce qui se traduit par un épaississement de la pâte fondue.

- les pyrophosphates de Calcium formés au cours du traitement thermique ont une taille qui leur permet de s'insérer entre les chaînes protéiques pour former des liaisons ioniques inter et intra protéiques ce qui entraîne la gélification du réseau.

La constitution du réseau protéique se fait d'autant plus vite que l'on incorpore de la préfonte; Cette dernière (fromage fondu déjà structuré) va conférer au sein du mélange où elle est introduite un « modèle » favorisant les interactions, ce qui va accélérer la cinétique de restructuration.

(ECK et GILLIS, 1997)

IV.3.2.3. La phase de refroidissement

C'est au cours de cette phase que se produit la gélification. Le réseau protéique formé grâce aux liaisons hydrogènes, hydrophobes et ioniques établies va se structurer pour former un gel qui va emprisonner fortement la matière grasse émulsionnée ainsi que l'eau d'hydratation. L'intervention des polyphosphates formant des ponts intermoléculaires peut être envisagée (ECK et GILLIS, 1997).

IV.4. Process de fabrication du fromage fondu

Les principales étapes de fabrication du fromage fondu sont :

IV.4.1. Sélection des matières premières et contrôle qualité

La sélection de matières premières est fonction de la formule du produit que l'on veut obtenir. Toutes les matières premières sélectionnées feront l'objet d'un contrôle rigoureux avant utilisation quant à leur composition physicochimique et bactériologique et leurs caractéristiques organoleptiques. (ECK et GILLIS, 1997)

IV.4.2. Écroûtage, découpage et broyage des fromages

L'écroûtage est réalisé traditionnellement par raclage ou brossage mais des techniques nouvelles apparaissent telles que les jets d'eau chaude sous pression par exemple.

Le broyage est une étape importante du traitement des matières premières, car il est indispensable de dissocier finement les fromages pour obtenir un fromage fondu homogène.

Dans certains cas, la matière première fromagère peut même être laminée pour la transformer en très fines brisures. (ECK et GILLIS, 1997).

IV.4.3. Préparation de la formule

- Pesée des matières premières :
- Mélange

Aux matières premières fromagères et laitières, on ajoute de l'eau et des sels de fonte, puis on effectue un pré broyage de l'ensemble pendant quelques minutes pour obtenir un mélange prêt à être fondu.

La réhydratation des poudres avant mélange est favorable à l'obtention d'un mélange homogène facilitant l'action des sels de fonte. (ECK et GILLIS, 1997)

IV.4.4. Cuisson

La cuisson et le brassage simultanés selon plusieurs techniques sont fonction du produit fini désiré, mais toujours avec utilisation de vapeur d'eau. La cuisson est effectuée dans des

- Pétrins traditionnels à simple ou double cuves et chauffage par injection directe de vapeur et double fond, pour une simple pasteurisation à 90-95°C.
- Pétrins du même type mais conçus pour atteindre une stérilisation lente à 120-125°C
- Stérilisateurs de diverses conceptions, assurant ou non préalablement la fonte proprement dite, et permettant, notamment en UHT d'atteindre des températures de l'ordre de 135-140°C assurant au produit fini une conservation particulièrement longue, appréciée pour les pays chauds. (LUQUET, 1990)

Le transport de la pâte chaude de fromage fondu vers les machines de conditionnement était dans les premiers temps, effectué à l'aide de seaux mais elle est maintenant réalisée sous pression, dans des conduits inoxydables ce qui évite toute contamination après pasteurisation ou stérilisation. (LUQUET, 1990)

IV.4.5. Crémage

Le crémage est réalisé normalement pendant le processus de cuisson dans les pétrins traditionnels dont les brasseurs peuvent être réglés ou programmés à des vitesses différentes. Cependant, lorsqu'une stérilisation est effectuée, la montée à haute température provoque l'inconvénient d'une rupture subite de la structure de la pâte, ce qui lui donne une consistance très liquide. Dans ce cas, il est nécessaire de prévoir une phase spéciale de « crémage » par une action mécanique prolongée sur la pâte avant de l'envoyer au conditionnement. L'importance du « crémage » a une influence importante sur la texture finale du produit. (LUQUET, 1990)

IV.4.6. Homogénéisation

On peut éventuellement faire subir au produit une étape d'homogénéisation. Cette dernière améliore la stabilité de l'émulsion de matière grasse en diminuant la taille des globules gras Elle améliore également la consistance, la structure, l'apparence et l'onctuosité des fromages fondus. Toutefois, du fait de son coût supplémentaire (maintenance et équipement), de la prolongation du temps de fabrication, l'homogénéisation n'est recommandée que pour des produits à teneur élevée en matière grasse. (ECK et GILLIS, 1997).

IV.4.7. Le conditionnement

Dans les premiers temps, la pâte de fromage fondu se conditionnait à la main, en portions triangulaires, sous feuilles minces d'étain. Aucune laque thermoscellable n'assurait l'étanchéité mais la feuille d'étain était suffisamment malléable pour abriter le produit.

Les machines à conditionner actuelles sont de véritable petites merveilles techniques capables de produire 200, 400, voir 800 portions à la minute. Si dans le temps, on ne connaissait que les portions carrées, triangulaires ou rondes, il existe maintenant une multitude de conditionnements rendus possible par le progrès technologique. Tant que le fromage fondu est sous forme liquide, il peut être conditionné dans n'importe quel format. Cependant, une fois raffermi par refroidissement, il ne doit plus être pressé ou formé car une exsudation serait alors inévitable.

Bien qu'il soit très difficile d'établir ou de subdiviser le large éventail des fromages fondus, on peut distinguer les grandes catégories suivantes: en bloc, en portions, en saucisses, en boîtes, en barquettes, en pots de verre, en tubes ... (WOLFGANG et al, 1991)

IV.4.8 Refroidissement du fromage fondu

Après le conditionnement, une phase importante est celle du refroidissement qui doit se faire rapidement mais sans trop de brutalité pour éviter des condensations d'eau qui pourraient se produire à l'extérieur des emballages. (LUQUET, 1990)

IV.4.9. Stockage du produit

On stocke les produits disposés dans des cartons dans des entrepôts dont la température est entre 10 à 15°C. Cette température est suffisante pour éviter la poursuite du crémage mais n'est assez basse pour entraîner la formation de condensat sur les emballages.

En conclusion, le respect des conditions optimales au cours de différentes étapes de fabrication permet d'obtenir un produit de bonne conservation d'une durée comprise généralement entre 6 mois et 1 an. (ECK et GILLIS, 1997).

IV.4.10. La conservation du fromage fondu

Malgré ses qualités exceptionnelles de conservation sous tous les climats, certaines précautions élémentaires doivent être prises pour la conservation, le transport, et la distribution du fromage fondu, notamment en ce qui concerne les pays chauds : Parmi les recommandations

- ↔ Eviter l'écrasement par surcharge et le mouillage, surtout lorsqu'il s'agit de boîtes en carton,
- ↔ Eviter l'exposition au soleil et le stockage à une température trop élevée, l'optimum est de 8-12°C,
- ↔ Eviter surtout les brusques changements de température, notamment le passage brutal du froid au chaud, ce qui provoque des condensations détériorant particulièrement les emballages en carton. (LUQUET, 1990).

I. FACTEURS DE CROISSANCE ET DE SURVIE DES MICROORGANISMES

Le développement des microorganismes présents dans un milieu est qualitativement et quantitativement déterminé par des caractéristiques physico chimiques de ce dernier. Il est indispensable de connaître les modes et les conditions d'action de ces paramètres et de leur interaction pour :

- 1- maîtriser la croissance des germes ;
- 2- prévoir les conséquences de leur développement
- 3- interpréter les observations faites sur un produit altéré. (BOURGEOIS et al, 1996)

I.1 Le pH

Le pH est l'un des facteurs les plus importants du développement des microorganismes (Rozier et al, 1985). Le pH optimum pour la croissance de la plupart des bactéries se situe aux environs de **7**. Cependant, certaines bactéries tolèrent des conditions acides ou fortement acides : bactéries dites **acidophiles** (pH optimum : **2 à 4**) ou des conditions alcalines, bactéries dites **alcalophiles**, (pH supérieurs à **8**) (SINGLETON, 2005).

I.2 La température

Chaque espèce de microorganismes a la possibilité de se développer dans une gamme donnée de températures caractérisée par une limite inférieure, un optimum et une limite supérieure au-delà de laquelle à quelques degrés près la mort survient. Selon leur température de développement, les microorganismes ont d'abord été classés en trois groupes (Rozier et al, 1985).

- **Les bactéries thermophyles** : dont la température de croissance optimale est $> 45^{\circ}\text{C}$.
- **Les bactéries mésophiles** dont la température est comprise entre 15 et 45°C .
- **Les bactéries psychrophiles** : se développent à basse température de (0 à 15°C), mais certaines peuvent se développer dans des milieux au dessus de 15°C avec une limite $> 20^{\circ}\text{C}$ (SINGLETON, 2005)

I.3 L'oxygène

Les bactéries qui ne peuvent pas se passer d'oxygène sont dites **aérobies strictes** ou **obligatoires**. **Les anaérobies stricts** ou obligatoires ne croîtront que si l'oxygène est absent. Les bactéries dont la croissance est assurée en présence d'oxygène mais peuvent se développer en anaérobiose sont dites **anaérobies facultatifs**. De la même façon, celles qui se développent normalement en anaérobiose mais peuvent aussi tolérer la présence d'oxygène sont dites **aérobies facultatifs**. (SINGLETON, 2005)

I.4. L'eau

Les bactéries ne peuvent croître que dans ou sur des matières contenant suffisamment d'eau libre (disponible). Dans une matière donnée, toute l'eau n'est pas nécessairement disponible pour la croissance bactérienne. Différentes espèces de bactéries tolèrent, à divers degrés, un fort déficit en eau (dessiccation). D'autres espèces, toutefois, ne peuvent survivre longtemps à l'état desséché. (SINGLETON, 2005)

I.5. Les substances nutritives

Quel que soit l'organisme, les cellules ont besoin de sources de carbone, d'azote de phosphore, de soufre et d'autres matériaux dont est faite la matière vivante. Certaines bactéries satisfont tous leurs besoins nutritifs avec de simples sels inorganiques et des substances comme le dioxyde de carbone et l'ammoniaque. D'autres requièrent à travers degrés des composés organiques plus au moins complexes, provenant d'autres organismes. (SINGLETON, 2005)

I.6. L'énergie

Beaucoup des réactions chimiques essentielles qui se déroulent dans une cellule vivante consomment de l'énergie. Toute cette énergie provient de l'une ou l'autre source offerte par le milieu. Les espèces photosynthétiques tirent leur énergie principalement ou exclusivement de la lumière, tandis que les espèces chimiotrophes trouvent la leur en transformant des produits chimiques extraits du milieu environnant. (SINGLETON, 2005)

I.7. Les ions inorganiques

Toutes les bactéries exigent la présence de certains ions inorganiques à de faibles concentrations. Des concentrations plus élevées inhibent généralement la croissance. On distingue les bactéries **halophiles** qui se développent qu'en présence d'une forte concentration en électrolytes (habituellement en forte concentration de NaCl) (SINGLETON, 2005).

II. PRINCIPAUX MICROORGANISMES AFFECTANT LA SALUBRITÉ ET LA SÉCURITÉ DES DENRÉES ALIMENTAIRES :

II.1. Les Staphylocoques

Staphylococcus aureus : Cocci à Gram positif classiquement disposés en grappes, non sporulés, immobiles. Les intoxications alimentaires sont provoquées par l'ingestion d'entérotoxines. Ces toxines sont produites par les souches de *Staphylococcus* contaminant l'aliment. Les aliments les plus incriminés sont les produits laitiers et la viande. (Rozier et al, 1985)

II.2. Les Clostridies

Clostridium : bactéries anaérobies sporulées qui contaminent les aliments, notamment les produits laitiers, la viande, la volaille. Les espèces du genre *Clostridium* les plus fréquemment impliquées dans les toxi-infections alimentaires sont *Clostridium perfringens* et *Clostridium botulinum*. (Rozier et al, 1985)

II.3. Les Salmonelles

Salmonella : entérobactéries, Gram négatif, mobiles, aéro-anaérobies facultatifs, elles peuvent se retrouver dans les aliments et sont à l'origine de toxi-infections alimentaires. (Rozier et al, 1985)

II.4. Listéria :

Les listeria sont des bacilles de petite taille, mobiles à 20°C, à gram positif. Toutes les espèces sont catalase positives, non sporulées, et anaérobies facultatifs.

Elles peuvent survivre aux traitements de nettoyage désinfection et ainsi persister dans les ateliers de production de l'industrie agro-alimentaire. La seule espèce de *Listeria* qui soit pathogène pour l'homme est *L. monocytogenes*, qui cause la listériose. (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Listeria>, consulté le 14/06/2007).

Actuellement, *Listeria* est utilisée dans les challenge tests pour évaluer le potentiel de croissance des bactéries pathogènes dans les produits laitiers.

II.5. Coliformes :

Bactéries de la famille des enterobacteriaceae, Gram négatif. Ce sont des hôtes normaux de l'intestin des mammifères. Leur présence dans l'eau et le lait ainsi que dans toute autre denrée alimentaire témoigne de contamination d'origine fécale. Ils sont considérés comme des indicateurs d'hygiène et de contamination fécale par excellence. Cependant, il est intéressant de souligner que certains d'entre eux sont pathogènes, exemple d'*Escherichia coli* de sérotype O157

Au niveau technologique: les bactéries hétérofermentaires (*Escherichia coli*, *Citrobacter*) sont responsables de la dépréciation de la qualité des produits laitiers (saveurs désagréables, substances visqueuses, gonflements.) (LUQUET et al, 1981).

| facteurs de croissance bactéries | pH | température | Aw | oxygène | [NaCl] |
|-------------------------------------|--|---|--------------------------|---------------------------|--------------------|
| <i>Staphylococcus auréus</i> | 6 -7 ⁽¹⁾] 4 -9.8 [(²⁾ | 37°C] 6 - 46°C [| >0.99] 0.83->0.99 [| Aéro-anaérobie facultatif | 0%] 0 – 20 % [|
| <i>Clostridies</i> |] 5.5 –8.0[|] 37 – 45°C [] 15 –50 °C [| 0.94] 0.945 –0.930 [| Anaérobie strict | 2 % < 6.5 % |
| <i>Salmonelles</i> |] 6.5 –7.5[] 4.5 – 9[|] 35 – 37°C [] 5 – 47°C [| 0.95 – 0.999 | Anaérobie facultatif | sensible |
| <i>Listeria</i> | 7.0] 4.4 - 9.4[| 37°C]-3 - 45°C[| 0.92 | Aéro anaérobie | 11.9 % |
| <i>Coliformes</i> |] 6.0 – 8.0[] 4.3 – 10 [|] 35 – 37°C [(c.totaux) 44°C (c.fécaux) | 0.94 – 0.97 | Aéro anaérobie | |

(1) : optimum (2) : cardinale

Tableau 1 : facteurs de développement des principaux microorganismes

III. LES SOURCES DE CONTAMINATION

Il s'agit des principales sources à considérer pour la maîtrise de l'hygiène et la sécurité dans une industrie alimentaire. Les dangers d'origine microbienne trouvent leurs origine dans ce que l'on appelle communément les 5M : **m**atières premières, **m**ilieu; **m**éthodes, **m**ain d'œuvre, **m**atériel.

La contamination primaire des matières premières alimentaires se fait par l'eau, le sol, l'air et les poussières, et de proche en proche au sein du produit lui-même. Lorsqu'elles sont transformées, les matières subissent de nouvelles contaminations propres au contexte de l'usine (ambiance, surfaces, eau, matériel, personne) et aux processus technologiques qui conduisent au produit fini.

(BOURGEOIS et al, 1990)

III.1. Matières premières

Le fromage est obtenu par transformation de matières premières. Leur choix est important. Il est fait selon différents critères tels que la qualité organoleptique et nutritionnelle, mais aussi tient compte de la qualité microbiologique et de la charge initiale en bactéries. Cette dernière dépend des conditions dans lesquelles elles ont été obtenues : conditions d'élevage et de collecte pour les produits d'origine animale. (BOURGEOIS et al, 1996). Les matières premières doivent répondre aux exigences définies dans le cahier de charge de l'industriel.

III.2. Milieu

L'usine et son environnement présentent une source de contaminations non négligeable qui viennent s'ajouter aux contaminations antérieures. Les principaux facteurs de risque sont l'air et le sol.

L'atmosphère environnant les produits alimentaires contient un grand nombre de germes qui peut varier de quelques centaines de milliers à plusieurs millions de germes par m³ et sont représentées essentiellement par des bactéries, des moisissures (*Aspergillus*, *Penicillium*) et plus rarement des levures (*torulopsis*). Les bactéries sporulées et les microcoques sont prédominants. (BOURGEOIS et al, 1996). La présence d'une charge bactérienne importante peut indiquer la présence de germes pathogènes.

La qualité de l'eau a une très grande influence sur la contamination des produits alimentaires. En effet, l'eau contient en suspension des microorganismes. Les germes hydriques sont souvent des bactéries ayant pour origine commune le sol et/ou les matières fécales de l'homme et des animaux (exemple : les entérobactéries). On y trouve une flore d'altération psychotrope et mésophile, des bactéries pathogènes comme *Salmonella* ou *Shigella*, des moisissures (*Aspergillus*, *Penicillium*) responsables des altérations des produits. (BOURGEOIS et al, 1996)

III.3. Méthodes

Les opérations technologiques modifient directement, de façon quantitative et qualitative, la flore des aliments. Elles font varier les paramètres physicochimiques du milieu qui ont une incidence directe sur la croissance et sur la sélection des germes contenus dans les produits. Cette pression de sélection est le principal agent de modification de la flore alimentaire quand l'hygiène de l'usine est convenablement maîtrisée.

Dans certains cas, La mise en œuvre des opérations technologiques permet une diminution de la flore totale et une sélection de germes spécifiques : de psychrotrophes (denrées réfrigérées), de sporulés (aliments thermisés).

Dans d'autres cas, les opérations telles que le broyage ou le mélange aboutissent à une homogénéisation des flores des différents ingrédients et à une modification de la structure des produits. Les germes présents sur la surface se trouvent alors introduits dans la masse. Les denrées ainsi traitées et manipulées sont sur un plan microbiologique plus fragiles que les produits entiers et doivent soumettre à des exigences d'hygiène et de respect des temps de stockage pour éviter l'augmentation de leur charge microbienne. (BOURGEOIS et al, 1996)

III.4. La main d'œuvre

L'homme est sans doute la principale source de contamination dans l'usine traditionnelle. Celle-ci est d'autant plus favorisée par le nombre de personnes et le contact direct avec les produits. (BOURGEOIS et al, 1996) «Il est défini par les professionnels comme un mal nécessaire»

Les principales sources de contaminations sont la sphère ORL (nez gorge oreilles) : cible privilégiée de nombreux virus, bactéries ou autres allergènes, le système pileux, les mains et les vêtements.

Les moyens utilisés actuellement pour limiter, maîtriser voire éliminer ces contaminations sont nombreux et ont recours à :

- La formation à l'hygiène et à une gestuelle adaptée pour l'hygiène du comportement
- Le port de protections : gant, masque, cagoule, combinaison adaptée (utilisation de vêtements de textiles synthétiques à fibres longues, n'émettant pas de particules et imperméables à celles produites par le corps humain pour l'hygiène vestimentaire (BOURGEOIS et al, 1996)

III.5. Matériel

La conception du matériel doit permettre un nettoyage et une désinfection facile. La simplicité dans la conception est recherchée : les appareils doivent être démontables pour éviter tout recoin inaccessible. Les matériaux utilisés doivent être résistants, durs, neutres vis-à-vis de la denrée et surtout non toxiques. (Rozier et al, 1985)

Le risque de contamination à partir des surfaces en contact avec les produits est très élevé. Il s'agit notamment des machines, cuves, plans de travail, bandes transporteuses, outils, couteaux, emballages. La nature des matériaux, de laquelle découle « la nettoyabilité » est déterminante. (BOURGEOIS et al, 1996). Le nettoyage et désinfection s'imposent régulièrement selon des techniques précises.

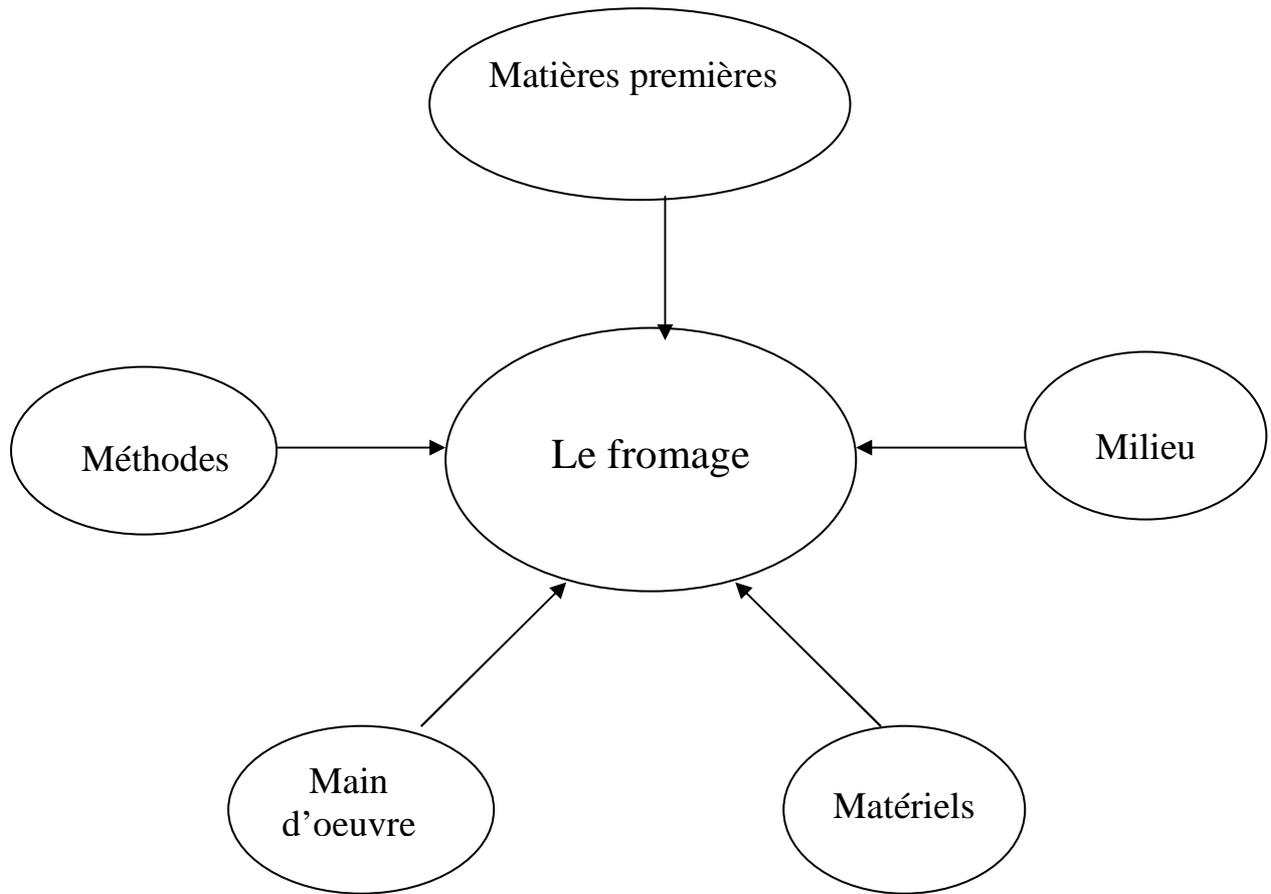


Figure 1: schéma récapitulatif des facteurs influençant la stabilité du fromage

I. DEFINITIONS

I.1. Durée de vie microbiologique

C'est la période par rapport à la date d'origine (date fixée par le fabricant) pendant laquelle l'aliment reste dans les limites microbiologiques fixées. (Norme française NF V 01-002)

Ces limites sont fixées afin de garantir que, pendant toute la période, l'aliment est propre à la consommation vis-à-vis des caractéristiques permettant de maîtriser les deux notions essentielles :

- la sécurité des aliments (absence de micro-organismes pathogènes)
- la salubrité des aliments (absence de micro-organismes d'altération) (www.fcserv.fmv.ac.be, consulté le 10/01/2007)

I-2 Qu'est ce qu'un danger ?

Tout facteur biologique, chimique ou physique dont la présence dans l'aliment peut provoquer un dommage au consommateur en le blessant ou le rendant malade

I-3 Qu'est ce qu'un danger microbiologique ?

Tout danger potentiel lié aux micro-organismes

I-4 Qu'est ce qu'un risque microbiologique ?

Tout danger microbiologique associé à un aliment dont on pondère l'importance en fonction de la gravité des troubles et de sa fréquence d'apparition.

I-5 Qu'est ce qu'une DLC.

Date limite de consommation (DLC). Cette limite est impérative. Elle s'applique à des denrées microbiologiquement très périssables, qui, de ce fait, sont susceptibles, après une courte période, de présenter un danger immédiat pour la santé humaine. Elle s'exprime sur les conditionnements par la mention "A consommer jusqu'au ...", suivie de l'indication du jour et du mois. (www.restocours.net, consulté le 26/02/2007)

I-6 Qu'est ce qu'une DLUO

Date limite d'utilisation optimale (DLUO). Elle n'a pas le caractère impératif de la DLC. Une fois la date passée, la denrée peut avoir perdu tout ou une partie de ses qualités spécifiques, sans pour autant constituer un danger pour celui qui l'absorberait. La DLUO s'exprime sur les conditionnements par la mention : "A consommer de préférence avant le ". (www.restocours.net, consulté le 26/02/2007)

II. FACTEURS LIÉS À LA DENREE ALIMENTAIRE.

Les facteurs qui déterminent la durée de vie des produits dépendent des caractéristiques du produit lui même et des facteurs liés à son environnement. Pour ne citer que les plus importants on peut considérer.

II.1. Les Facteurs intrinsèques

- la contamination initiale (quantitative et qualitative)
- la composition du produit
- le pH (bactéries acidophiles, basophiles, neutrophiles.)
- l'activité de l'eau (osmophiles)
- le potentiel d'oxydoréduction

II. 2. Les Facteurs extrinsèques

- la température et le temps de conservation ou de préparation
- les radiations ionisantes et les UV :
- le conditionnement
- les agents conservateurs (additifs)
- les flores de barrière protectrices : des flores qui inhibent d'autres flores par compétition

III. UTILISATION DE MÉTHODES D'ANALYSES MICROBIOLOGIQUES

Deux approches sont à considérer

III.1. Méthodes qualitatives

Expriment la présence ou la détection d'au moins 1 micro-organisme dans une certaine quantité d'aliment (Ex: Présence de *Salmonella* dans 25grammes d'aliment).

III.2. Méthodes quantitatives

Expriment le nombre de micro-organismes dans une certaine quantité d'aliment (Ex: 3000 *Pseudomonas* par gramme d'aliment). Les méthodes quantitatives sont mieux adaptées que les méthodes qualitatives pour étudier la durée de vie microbiologique d'un aliment. Des méthodes spécifiques n'existent que pour les germes pathogènes mais il faut s'assurer de leurs performances (par la validation).

Pour le suivi des germes d'altération, des méthodes spécifiques aux germes ou aux groupes de germes habituellement impliqués dans l'altération de chaque type d'aliment doivent être utilisées.

(www.fcserve.fmv.ac.be, consulté le 10/01/2007)

IV. DETERMINATION DE LA DUREE DE VIE MICROBIOLOGIQUE DES ALIMENTS.

IV. 1. Étapes préalables

- **1-Connaissance du produit fini et de son devenir:**
 - Composition (analyses, table, littérature.)
 - Flore altérante, pathogène ou technologique attendu.
 - Paramètres physico-chimiques (analyses, mesures, littérature)
 - Tenir compte :
 - De l'hétérogénéité des produits,
 - De l'utilisation attendue,
 - De la maîtrise attendue de la chaîne du froid

- **2-Choisir et fixer les seuils acceptables pour les germes pathogènes et altérants (législation et critères microbiologiques)**

- **3-Estimer les évolutions microbiologiques potentielles en fonction des alternatives de conservation :**
 - Des germes altérants ou technologiques par des études de microbiologie prédictive
 - Des germes pathogènes par des études de microbiologie prédictive

- **4-Evaluer si les conditions de conservation préconisées donnent des garanties suffisantes (marges de sécurité) en terme de risque pour la santé publique.**

- **5-Valider les dates limites de consommation et les conditions de conservation pour les produits périssables par les tests de vieillissement**

- **6-Evaluer les risques potentiels et éventuellement adapter les critères microbiologiques en sortie de production (*Listeria monocytogenes*) pour les produits périssables par les tests de croissance ou «challenge test» ou épreuve microbiologique**

- **7-Vérifier la maîtrise en réalisant des analyses microbiologiques aux points-clé du processus et sur les produits finis. (www.fcserv.fmv.ac.be, consulté le 10/01/2007)**

IV.2 Conditions de validation de la durée de vie microbiologique

Cette validation doit être effectuée :

- lorsque l'analyse des dangers microbiologiques montre qu'il est nécessaire de valider la durée de vie ;
- lorsque la réglementation l'impose.

Pour la validation de la durée de vie microbiologique, on doit tenir compte des écarts par rapport aux conditions normales de fabrication, de distribution, de manipulation et d'utilisation par le consommateur, dans des limites admissibles ou prévisibles. (NF-V-01-003).

IV.3. Modalités pratiques pour la validation de la durée de vie microbiologique des aliments périssables

- Les études de vieillissement ou de conservation permettent de déterminer la **durée de vie** des Produits
- Le challenge-test fournit des informations supplémentaires par la simulation d'une contamination accidentelle de germes ciblés, de la matière première au produit fini. (www.fcserv.fmv.ac.be, consulté le 10/01/2007)

IV. 3..1. Tests de vieillissement

IV.3.1.1 Définition

C'est l'étude de l'évolution dans un aliment de populations de micro-organismes qui y sont habituellement présents, de façon détectable ou non, dans les conditions préconisées de conservation de cet aliment. (NF-V-01-002)

La réglementation impose que les produits alimentaires qui ne sont pas stables à température ambiante et faisant l'objet d'une conservation prolongée soient soumis à des analyses réalisées à la DLC (date prévue par le fabricant) afin de vérifier que les critères microbiologiques s'appliquant au produit sont respectés jusqu'à la DLC. Cette vérification est implicite dans le cadre de l'application de la méthode HACCP. (Hasard Analysis Critical Control Point)

Les bases réglementaires s'appuient sur les normes : (NF-V-01-002) et normes NF V 01-003 de février 2004

IV.3.1.2. Intérêts

-Les tests de vieillissement ou analyses à la DLC consistent, pour le producteur, à proposer une DLC pour son produit. Son laboratoire conserve le produit jusqu'à cette DLC puis réalise l'analyse microbiologique du produit. Pour déterminer la DLC envisageable, le producteur doit avoir recours à sa connaissance du produit, à des essais précédents (avec ou sans analyses), aux usages, aux pratiques de ses concurrents, le laboratoire peut également lui donner des informations s'il s'agit d'un produit « classique ». (www.idac.fr, consulté le 28/05/2007)

IV.3.1.3. Les protocoles de réalisation des analyses à la DLC ou tests de vieillissement (NF V 01-003 de février 2004)

Le principe consiste donc à conserver dans les locaux du laboratoire, qui s'engage sur la durée de conservation, un certain nombre d'unités de produits en faisant varier la température pour pratiquer ce qu'on appelle une «rupture de chaîne du froid » fictive. A la date prévue pour la DLC parfois prolongée de quelques jours de sécurité (pour prévoir des anomalies de conservation par le consommateur) le laboratoire réalise les analyses. (www.idac.fr consulté le 28 /05/2007)

Les analyses effectuées durant et à la fin de la durée de vie des produits dans ce contexte sont les suivantes :

1-le dénombrement des flores réglementaires: (selon le JO n°35 du 27/05/1998) qui consiste à dénombrer durant la durée de vie : les germes totaux aérobies, les germes totaux anaérobies, les entérobactéries (*Escherichia Coli*). *Staphylocoques*. *Clostridies*

2- le contrôle physico-chimique des produits : pH, Aw, composition.

IV.4. Tests de croissance ou «Challenge Tests »

IV.4.1. Définition

Un test de croissance ou challenge test correspond à une expérience destinée à évaluer l'accroissement de la population d'un microorganisme (généralement identifié comme un danger) dans une denrée alimentaire inoculé artificiellement avec une culture connue de ce microorganisme, et analysée dans les conditions raisonnablement prévisibles de son utilisation. il s'agit de tests permettant de définir un potentiel de croissance, soit à une température constante, soit au cours d'un profil temps /température (simulant par exemple la chaîne du froid avec rupture). (George Daube 2006)

IV. 4. 2. Bases réglementaires

Les challenges tests s'inscrivent dans le cadre du règlement (CE) n°2073/2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires. Celui-ci fixe les critères de sécurité alimentaire suivants pour les agents pathogènes dans les denrées alimentaires prêtes à être consommées, non destinées aux nourrissons ou à certaines fins médicales

Selon, l'article 3, point 2 du Règlement (CE) n°2073/2005, les exploitants du secteur alimentaire sont tenus de réaliser des études pour vérifier si les critères mentionnés précédemment sont respectés pendant toute la durée de vie des aliments.

IV.4.3. Intérêt

Pour quoi utiliser les challenges tests.

La détermination des durées de vie des produits (DLC, DLUO) est établie sous la stricte responsabilité de l'industriel. Il appartient à ce dernier de valider ces dates par des études de vieillissement ou de conservation (suivi de la flore naturelle du produit au cours du temps). Le test d'épreuve (challenge-test) apporte des informations supplémentaires par la simulation d'une contamination accidentelle, ciblée, de la matière première ou du produit, survenue au cours de la fabrication ou de la conservation. (www.pasteur-lille.fr, consulté le 16/11/2006)

Le challenge-test permet de :

- simuler le comportement de bactéries pathogènes ou non pathogènes (flore d'altération, ferments), de levures, moisissures, virus ou autres contaminants dans un produit alimentaire : soit par contamination de la matière première (challenge-test produit), soit après recontamination des surfaces, soit par contamination au cours de la fabrication (challenge-test procédé) ou de la conservation. (www.pasteur-lille.fr, consulté le 16/11/2006)
- déterminer l'efficacité d'un nouveau traitement, d'un procédé de fabrication, d'un emballage avec simulation ou non des conditions de rupture de chaîne du froid.
- comparer et valider l'influence de modifications de procédés, formules, traitement thermique.
- valider ou confirmer les DLC, les DLUO après simulation ou non d'accident de fabrication.
- valider des modèles de microbiologie prévisionnelle.
- renforcer la démarche HACCP. (www.pasteur-lille.fr consulté le 16/11/2006)

Il en ressort que les dates limites de consommation des aliments périssables doivent être validées notamment en fonction de la durée de vie microbologique sur les paramètres « sécurité » et « qualité »

Pour les paramètres d'altération, des tests de vieillissement doivent être menés sur les flores pertinentes avec un protocole standardisé. Pour les risques pour la santé, des tests de croissance doivent être mis en œuvre.

Les méthodes utilisées doivent être les plus adaptées, les plus performantes et, si possible, quantitatives (www.fcserv.fmv.ac.be, consulté le 10/01/2007)

IV.4.4. protocole



Figure 2 : principe général du challenge test (www.pasteur-lille.fr)

I. But :

Notre étude a pour objectif de mettre en application l'approche actuelle concernant les tests de stabilité de produit périssable et de la validité de leur durée de vie d'un produit largement commercialisé dans notre pays et les pays en voie de développement de par ses qualités organoleptiques technologiques et nutritionnelles : le fromage fondu.

La connaissance des qualités physicochimiques intrinsèques du produit, les niveaux de contamination microbiologiques, l'hygiène de l'environnement et le comportement du produit durant son stockage sont autant de paramètres importants qui interviennent au niveau de la durée de vie validée par une date limite de consommation et une DLUO. Cet aspect est méconnu chez quelques uns de nos industriels pourtant compte tenu des nouvelles réglementations et des exigences commerciales, la responsabilité concernant la qualité et la sécurité leur incombe de plus en plus.

C'est cette approche nouvelle qui a justifié le choix des différents paramètres présentés dans le document dans le cadre de notre projet de fin d'études.

II. LIEU DE FABRICATION DU FROMAGE FONDU :

Lieu de la fromagerie: commune Dar El Beida.

Appellation : MAGIVACHE.

Type de fromage : fromage fondu.

Type de production: en portions (240gr) et en barres (400gr, 750gr, 1kg)

Étiquetage: durée de vie 03 mois.

III. LES PRÉLÈVEMENTS :

-Echantillonnage : des barres de 400gr, conservées à 4°C

-Durée de vie : 12/12/2006 – 11/03/2007

-Transport : les barres été mise dans une glacière et transportées vers le laboratoire dans les heures qui suivent vers le lieu d'analyse.

-Nombre de prélèvements :

- 7 prélèvements (une fois tous les 15 jours durant la durée de vie).
- 2 prélèvements (une fois par mois après la date limite de consommation).

Le transport des échantillons prélevés a été réalisé le plus rapidement possible vers le laboratoire.

Les échantillons ont été stockés à température de +4°C jusqu'au jour des l'analyses.

IV. LIEU DES ANALYSES :

Les analyses ont été effectuées au niveau du laboratoire du Centre Algérien de Contrôle de Qualité et d'Emballage. (C.A.C.Q.E). Le C.A.C.Q.E est un établissement public sous tutelle du Ministère du Commerce.

Le laboratoire Central a pour missions :

- le contrôle de la qualité des produits alimentaires ou industriels ;
- la répression des fraudes.

Le laboratoire central est organisé en deux départements :

- Département de Physico-chimie est structuré en :
 - Section des analyses fines ;
 - Section des analyses des produits d'origine animale ;
 - Section des produits d'origine végétale ;
 - Section cosmétique et textile ;
 - Section des résidus des pesticides et mycotoxines.
- Département de Microbiologie est structuré en :
 - Section de microbiologie alimentaire ;
 - Section de microbiologie non alimentaire.

V. MÉTHODOLOGIE DE RECHERCHE :

Notre partie expérimentale consiste en trois parties distinctes:

1. Les Tests de vieillissement sur une période de 3 mois pendant laquelle des analyses physicochimiques et des analyses microbiologiques ont pu être effectués sur le fromage fondu provenant d'un même lot.
2. Une évaluation de l'hygiène et de la qualité microbiologique de l'environnement de la fromagerie.
3. Les challenge tests ou tests de croissance qui consistent à évaluer le comportement du fromage par rapport à une souche et son potentiel de croissance.

V.1. Tests de vieillissement :

Cette partie a pour but d'évaluer la stabilité du fromage par le biais d'analyses physicochimiques et microbiologiques (caractéristiques intrinsèques et extrinsèques) durant sa durée de vie.

V.1.1. Analyses microbiologiques :

Les critères microbiologiques sont définies dans le Journal Officiel Algérien n°35 du 27/05/1998 (Arrêté interministériel du 25 Ramadhan 1418 correspondant au 24 janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires) Les analyses consistent en :

- Recherche des *Coliformes*.
- Recherche des *Staphylocoques*.
- Recherche des *Salmonelles*.
- Recherche des *Clostridies* sulfito-réductrices.
- Recherche de *Listéria monocytogènese*.

- Matériels utilisé :

Blouse propre, étuve et bain marie, balance, verreries : flacons et tubes à essai, anse de platine, pipettes pasteur, pipettes graduées, agitateur, spatule, Bec benzène.

Boîtes de pétri, milieux de culture spécifiques aux germes isolés

- Prélèvements :

Neuf (9) échantillons de fromage fondu, conditionnés en barre de 400g, ont été prélevés à partir d'un lot de 10 barres de fromage fondu de 400gr,

- Méthodes d'analyses :

25 g d'échantillon dans 225 ml d'eau peptonnée tamponnée ont constitué la prise d'essai pour les *Salmonelles* et 10 g d'échantillon dans 90 ml de citrate de sodium pour les autres bactéries recherchées.

Le protocole pour chaque bactérie recherchée est décrit dans les figures 1, 2, 3,4 (Annexe).

- Recherche des salmonelles : Normes ISO 6888 et NA 15164 (2004)

La recherche de salmonelles consiste en une étape de Pré enrichissement au cours de laquelle 25g de produit sont pesés et homogénéisés dans 225ml d'eau peptonnée tamponnée.

et incubés à 37°C durant 16 à 20 heures et une étape d'enrichissement au cours de laquelle 1ml du bouillon enrichi est ensemencé dans le milieu Rappaport Vassiliadis et incubé à 42°C pendant 18 à 24 h et 1ml dans le milieu Sélénite Cystine et incubé à 35-37°C pendant 18 à 24 h.

- Recherche des coliformes et coliformes fécaux: Norme ISO 4832

10 grammes (g) de fromage prélevés à différents endroits de la barre sont mis en suspension dans 90 ml de Citrate de sodium. Deux séries de un millilitre de la dilution 10^{-1} , 10^{-2} et 10^{-3} ont étéensemencés en profondeur dans la gélose au VRBL (Agar au violet cristal, au rouge neutre et à la bile) et incubés 24 h à 37°C pour la recherche des coliformes et à 44°C pour celle des coliformes fécaux.

- Recherche des staphylocoques : Normes ISO 6579 et NA 1203 (1990)

Un dixième (0.1ml) de millilitre de chaque dilution (10^{-1} et 10^{-2}) a étéensemencé à la surface d'un milieu gélosé de Baird-Parker et incubé à 37°C pendant 24h et 48h.

- Recherche des clostridies : Norme ISO 15213 2003.

Un ml de la dilution 10^{-1} , thermisé dans un tube à essai à 80°C pendant 10 min au bain-marie, estensemencé en profondeur sur 15ml de gélose TSN (tryptone-sulfite-néomycine). Après solidification, une deuxième couche est ajoutée. Les boîtesensemencées sont incubées à 46°C pendant 48h.

V.1.2. Analyses physico chimiques :

Les caractéristiques physicochimiques influencent directement le développement des microorganismes et la stabilité du produit. Ces caractéristiques doivent répondre aux exigences définies dans le journal officiel Algérien (ex: taux de matières: 38 %) et présenter les qualités organoleptiques requises (onctuosité, fermeté, flaveur.).

Les analyses ont consisté aux:

- Dosage de l'extrait sec ou matière sèche
- Dosage de la matière grasse
- Mesure du pH
- Mesure de l'humidité
- Dosage des protéines

Matériel utilisé : blouse, étuve, bain-marie, pH-mètre, balance, dessiccateur, solvants organique, sable, butyromètre de VAN GULIK, Appareil de kjeldhal.

- Méthodes d'analyses :

- Dosage de l'extrait sec ou matière sèche : (FIL- IDF : 4 : 1958)

Par définition, l'extrait sec du fromage et du fromage fondu est la masse exprimée en pourcentage pondéral, subsistant après le processus de dessiccation.

Principe : L'échantillon est mélangé avec du sable et mis à sécher dans l'étuve à 102 ± 2 °C jusqu'à obtention d'un poids constant.

Formule :

Extrait sec = Poids de la capsule étuvée – Poids de la capsule vide / prise d'essai



Figure3 : Photos personnelles (dessiccateur, balance, laboratoire du CACQE, 2007)

- Dosage de la matière grasse : (NA 1933-1990)

La détermination de la teneur en matière grasse a été déterminée par la méthode acido-butyrométrique de VAN GULIK 6p EQV NFV 04-287

Principe : après dissolution des protéines du fromage au moyen d'acide sulfurique, séparation de la matière grasse par centrifugation dans un butyromètre de VAN GULIK, la séparation est favorisée par l'addition d'une petite quantité d'alcool amylique. L'obtention de la teneur en matière grasse a été effectuée par lecture direct sur l'échelle du butyromètre.



Figure 4 : Photos personnelles (butyromètre, bain marie, Laboratoire du CACQE, 2007)

- Mesure du pH :

Il se fait à l'aide d'un pH-mètre, qui est utilisé pour mesurer la différence de potentiel, à une température déterminée, entre une électrode de mesure et une électrode de référence, toute deux étant introduites dans le fromage.



Figure5 : Photo personnelle (pH mètre, laboratoire du CACQE, 2007)

- Mesure de l'humidité :

L'humidité d'un produit est définie par sa teneur en eau. Le dosage de l'humidité est effectué par soustraction de l'extrait sec donc par application de la formule ci dessous

Formule : Humidité = 100 – Extrait sec

- Dosage des protéines NA 2709- 1992

Détermination de la teneur en protéines selon 3p EQV FIL 25

Principe : l'azote total est dosé par titrimétrie, après minéralisation selon la méthode KJELDAHL et distillation.

Les étapes sont décrites ci-dessous

1. Minéralisation
2. Distillation
3. Dosage



Figure 6 : Photos personnelles (Dosage des protéines, appareil de KJELDAHL laboratoire du CACQE, 2007)

V.2. Evaluation de l'hygiène de l'environnement : (Norme ISO : 7218)

La qualité microbiologique de l'air peut être évaluée après exposition pendant 15 min de boîtes de Pétri contenant différentes géloses pour la recherche des *Escherichia coli* (gélose Rapid *E.Coli*), pour la recherche de la flore totale (gélose Plat Count Agar) et OGA (Oxytetracycline Gelose Agar) pour la recherche des levures moisissures. Ces boîtes sont exposées au niveau des emplacements les plus critiques du lieu de fabrication, ouvertes à l'air libre et par la suite incubées aux températures suivantes suivant la flore recherchée.

- 37°C et 44°C pour Rapid *E.Coli* pendant 24h.
- 30°C pour les boîtes de PCA pendant 3 jours
- 25°C pour les boîtes d'OGA pendant 5 jours



Figure 7 : Photos personnelles (évaluation de l'hygiène, fromagerie MAGIVACHE, 2007)

Les boîtes ont été réparties comme suit

La salle de préparation

La salle de conditionnement 1 pour les portions.

La salle de conditionnement 2 pour les barres.

Enceinte de stockage des fromages produits (la chambre froide).

Après incubation aux températures appropriées, le comptage des colonies est effectué pour chaque boîte et le nombre d'unités formant colonies est effectué

V.3. Tests de croissance ou challenge tests.

- Rappel de la définition

Evaluation de la cinétique de croissance ou de survie d'un germe précis dans ou sur un aliment donné après inoculation artificielle à un niveau prédéterminé et durant la conservation dans les conditions contrôlées pendant une durée prédéfinie.

Les challenge tests sont utilisés plus particulièrement lorsqu'on étudie des micro-organismes pathogènes qui ne sont pas détectables de façon habituelle dans l'aliment.

- **Protocole réalisé**

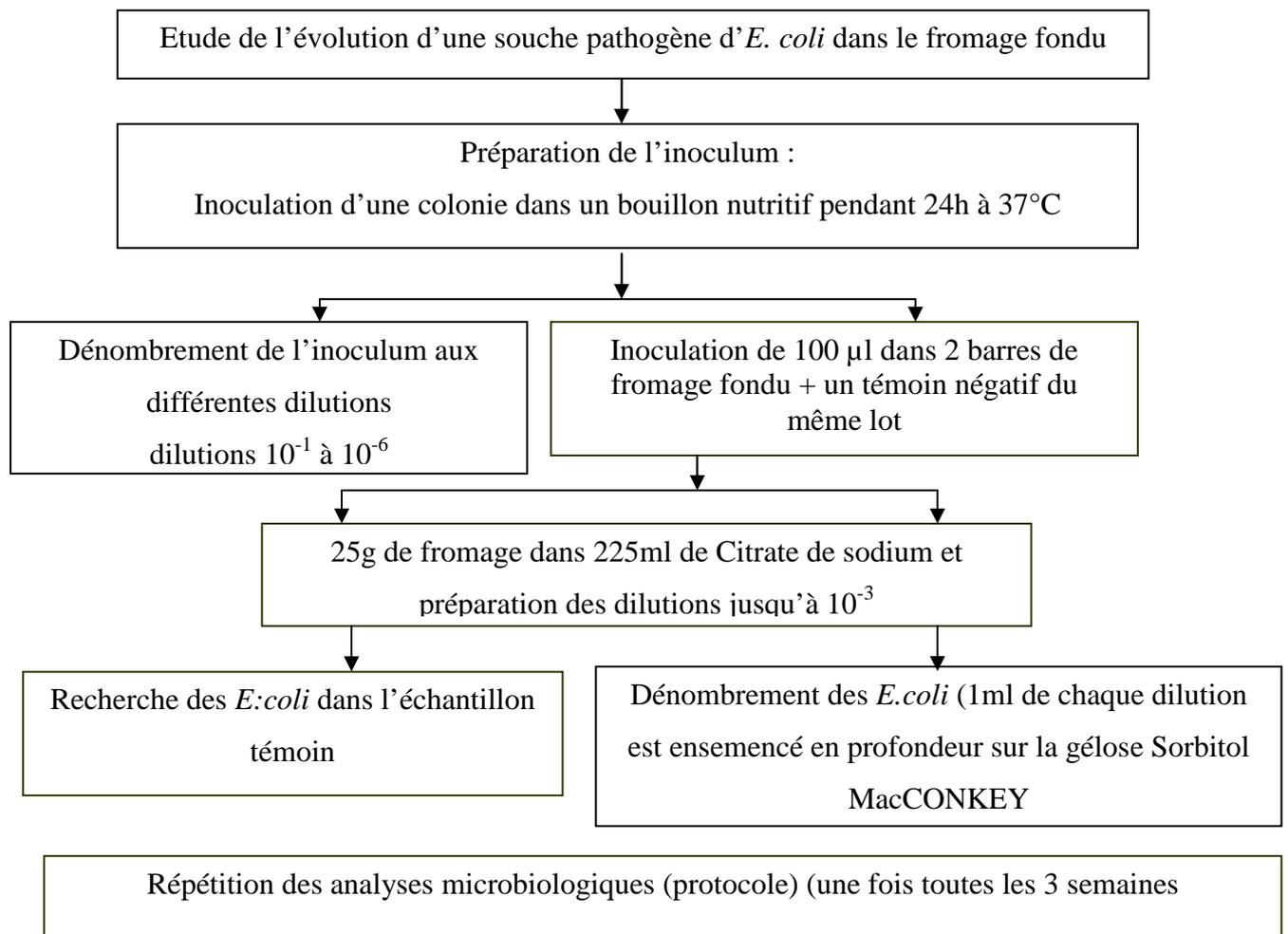


Figure 8 : photos personnelle (réalisation du challenge tests, laboratoire du CACQE, 2007)

VI. RÉSULTATS:

Des barres de fromage (9 barres) ont été prélevées et analysées pour déterminer les paramètres susceptibles d'influencer la conservation et la stabilité du produit tout au long de sa durée de vie ainsi que son comportement vis-à-vis d'un pathogène. Les analyses ont été répétées à raison d'une analyse par quinzaine de jours. De même, une évaluation de la qualité microbiologique a permis de compléter les résultats obtenus lors des deux premiers tests.

VI.1 Résultats des tests de vieillissement

VI.1.1 Résultats des analyses microbiologiques

Les résultats des dénombrements des différentes espèces bactériennes dans les barres analysées n'ont révélé aucune présence de bactéries tout au long de la durée de vie du produit. Au cinquième mois soit un mois après la DLC, Il y'a eu développement de moisissures

| Dates | Coliformes | | Salmonelles | Staphylocoques | Clostridies |
|------------|-------------------------|--------|-------------|----------------|-------------|
| | Totaux | Fécaux | | | |
| 16-12-2006 | abs | abs | abs | abs | abs |
| 30-12-2006 | abs | abs | abs | abs | abs |
| 13-01-2007 | abs | abs | abs | abs | abs |
| 27-01-2007 | abs | abs | abs | abs | abs |
| 10-02-2007 | abs | abs | abs | abs | abs |
| 24-02-2007 | abs | abs | abs | abs | abs |
| 10-03-2007 | abs | abs | abs | abs | abs |
| 08-04-2007 | abs | abs | abs | abs | abs |
| 29-04-2007 | Présence de moisissures | | | | |

abs : absence

Tableau n°2 : Résultats des analyses bactériologiques.

VI.1.2. Résultats des analyses physicochimiques

| paramètres Dates | Extrait sec | Matière grasse | MG/ES | Humidité | pH | Protéines |
|---------------------|--|-------------------|-------|----------|------|-----------|
| 16-12-2006 | 39% | 13% | 33% | 61% | 6.29 | 17.77% |
| 30-12-2006 | 40% | 13% | 32% | 60% | 6.27 | 11.15% |
| 13-01-2007 | 40% | 14% | 35% | 60% | 6.92 | 10.67% |
| 27-01-2007 | 40% | 13% | 32% | 60% | 6.57 | NR |
| 10-02-2007 | 40% | 14% | 35% | 60% | 6.28 | NR |
| 24-02-2007 | 39% | 14% | 35% | 61% | 6.34 | NR |
| 10-03-2007 | 39% | 14% | 35% | 61% | 6.14 | NR |
| 08-04-2007 | 40% | 14% | 35% | 60% | 6.15 | NR |
| 29-04-2007 | Fin de durée de vie car altération microbienne | | | | | |

NR : Non Réalisé ; MG : matières grasses, ES : extrait sec

Tableau n°3 : Résultats des analyses physicochimiques.

VI.2. Comptage des colonies pour l'évaluation de la qualité bactériologique de l'ambiance

| Milieux utilisés | Salle de préparation | Salle 1 conditionnement | Salle 2 conditionnement | Lieu de stockage |
|--|---|--|-------------------------|------------------|
| Après 24 h Rapid <i>E. Coli</i> | 1 ufc à 44°C 4 ufc à 37°C | 2 ufc à 44°C 5 ufc à 37°C | absence | absence |
| Après 24h PCA | 55 ufc 29 ufc 37 ufc 15 ufc | 18 ufc 23 ufc 92 ufc 52 ufc | 10 ufc 30 ufc | 5 ufc |
| Après 3 jours PCA (flore totale) | 98 ufc 75 ufc 78 ufc envahissement | 100 ufc 240 ufc 207 ufc envahissement | 159 ufc 110 ufc | 11 ufc |
| Après 5 jours OGA (Levures -moisissures) | 8 ufc 45 ufc 18 ufc 10 ufc | 32 ufc 9 ufc 14 ufc envahissement | 16 ufc 18 ufc | absence |

ufc : unité formant colonies ; envahissement : plus de 300 ufc

Tableau n°04 : Résultats des dénombrements pour l'évaluation de l'hygiène de l'ambiance

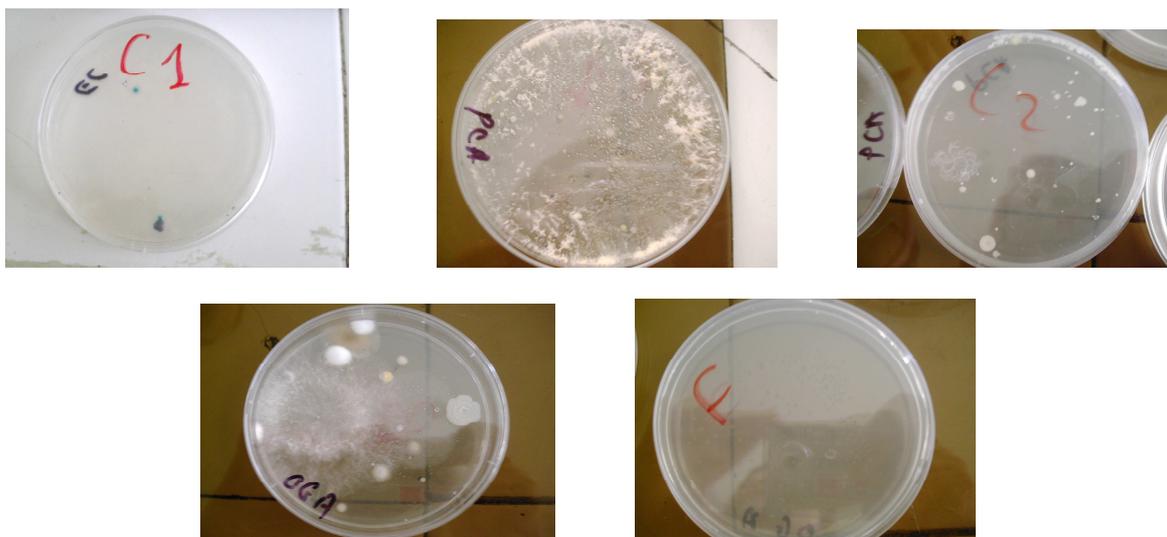


Figure 9: Photos personnelles : résultats des contaminations aéroportées (hygiène de l'ambiance) (Laboratoire du CACQUE, 2007)

Les dénombrements des flores d’ambiance ont montré la présence de coliformes totaux et coliformes fécaux dans la salle de préparation et dans la salle 1 de conditionnement

VI.3. Résultats des tests de croissance après inoculation expérimentale

| Barres | jour | Concentration (ufc/g) | Concentration (log ₁₀ ufc/g) | Potentiel de croissance DLC _{max} – jour 0 _{min} (log ₁₀ ufc/g) |
|--------|------|--------------------------|--|--|
| 1 | 0 | 50 | 1.70 | 0.30 |
| | | 100 | 2.00 | |
| | DLC | 60 | 1.78 | |
| | | 100 | 2.00 | |
| 2 | 0 | 100 | 2.00 | 0.40 |
| | | 40 | 1.60 | |
| | DLC | 70 | 1.85 | |
| | | 100 | 2.00 | |

DLC : Date Limite de Consommation; ufc: unité formant colonies

Tableau n°05 : Résultats en log₁₀ufc/g des tests de croissance

Les valeurs des dénombrements des *E.coli* pathogènes (**log₁₀ ufc/g**) obtenus pour chaque barre et par semaine sont présentées dans le tableau 6

| Semaines | Nombre log ₁₀ UFC/g (Barre1) | Nombre log ₁₀ UFC/g (Barre2) |
|----------|--|--|
| 0 | 4.42 | 4.42 |
| 3 | 1.88 | 1.85 |
| 6 | 1.48 | 1.87 |
| 9 | 0.69 | 1.78 |

Tableau n°06 : Résultats des dénombrements de l’inoculum en log₁₀ ufc/g par semaine

A partir de ces résultats (tableau 6) une courbe, marquant l'évolution ou la survie de la bactérie dans les deux barres de fromages inoculées, a été réalisée nous permettant à travers une série de mesures d'évaluer son potentiel de croissance dans le produit

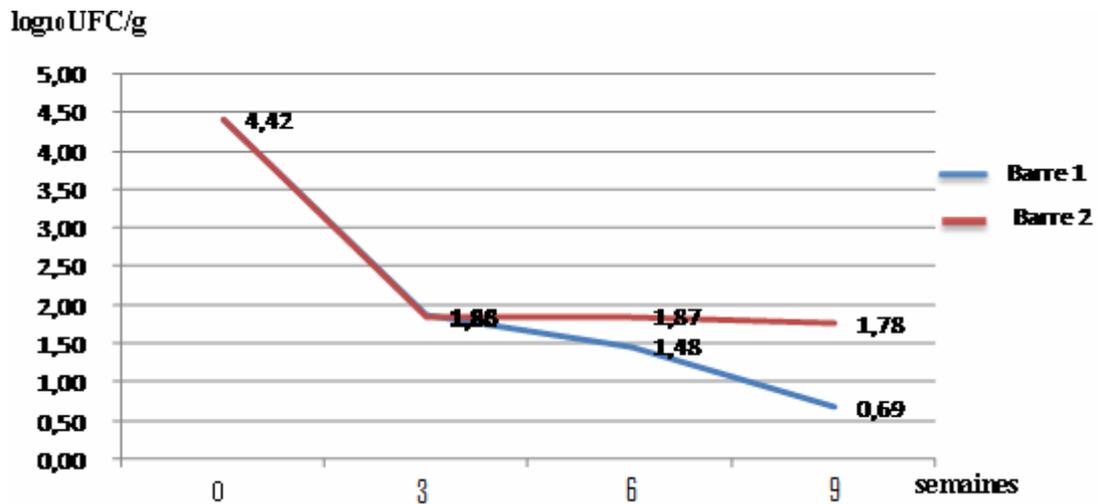


Figure 10: Courbe de suivi du développement de la bactérie dans le fromage par semaine

DISCUSSION ET INTERPRETATION

Dans le secteur agroalimentaire, le respect des normes et des règles techniques applicables en la matière, nécessitent un passage aux normes HACCP et ISO 22000 qui sont les principaux outils de la qualité. La majorité des entreprises sont certifiées, ou en cours de le devenir notamment dans les domaines de la production laitière et dérivés, (lait, yaourt, fromage...), de la minoterie, des eaux minérales et boissons et de la biscuiterie. Si les éléments HACCP sont toujours intégrés dans les systèmes de management de la qualité en Algérie, la nécessité de passer à la certification Iso 22000 est réelle. Les assises nationales de l'industrie ont recommandé l'élaboration de politiques publiques prenant en compte les différents aspects de la filière. Ainsi, il a été recommandé entre autres la poursuite de la réflexion et la concertation avec les professionnels; augmenter les moyens affectés à la recherche et développement, créer des labels algériens et assurer un contrôle strict du respect des normes sur la production et importations et ce pour répondre aux objectifs de l'adhésion à l'OMC

La qualité est définie comme étant un ensemble des caractéristiques d'une entité qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés ou implicites. La démarche qualité est l'ensemble des actions que mène l'entreprise pour se développer par la satisfaction de ses clients. Elle consiste donc à mettre en place au sein d'une structure un système formel de détection, d'analyse et de traitement de problèmes rencontrés (<http://www.enpc.fr/fr/formations>, consulté le 05/06/2007).

Un des aspects (peu maîtrisé en Algérie mais en plein essor dans les pays industrialisés) de la qualité est celui de la durée de vie du produit et l'étude de sa stabilité. Dans la nouvelle réglementation et spécialement le règlement CE/ 2073/2005 (réglementation et normes) concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires. Il est clairement spécifié, dans son article 3 que:

« L'industriel veille à ce que les denrées alimentaires respectent les critères microbiologiques à tous les stades de la production, de la transformation et de la distribution de denrées alimentaires, y compris la vente au détail, ils prennent des mesures, dans le cadre de leurs procédures fondées sur les principes HACCP ainsi que de leurs bonnes pratiques d'hygiène afin que ; les critères de sécurité des denrées alimentaires applicables pendant toute la durée de conservation des produits soient respectés dans des conditions de distribution, d'entreposage et d'utilisation raisonnablement prévisibles.»

C'est tout l'intérêt de notre étude pour laquelle, nous avons choisi une petite industrie fromagère qui nous a permis de tenter l'expérience et de mettre en application l'approche nouvelle de l'étude de la stabilité d'un fromage fondu (produit périssable) au cours de sa durée de vie. Le fromage fondu, de par ses qualités nutritionnelles, organoleptiques et technologiques (variétés de recettes à base de fromages fondus) est l'aliment de choix et un complément qui peut satisfaire les besoins nutritionnels de notre population composée en majorité d'individus en pleine croissance.

L'étude de la stabilité exige la maîtrise et la connaissance des caractéristiques physicochimiques du produit (pH, activité hydrique, activité de l'eau). Les nouveaux outils de la qualité (systèmes ISO et HACCP) prévoient dans leurs principes premiers de définir au préalable le produit (appellation, dans notre cas : fromage fondu «MAGIVACHE») et ses caractéristiques physicochimiques parce que ces dernières conditionnent le développement microbien et la stabilité du fromage donc sa durée de vie. On parlera ainsi dans ce cas de tests de vieillissement du produit.

Les méthodes d'analyses que nous avons utilisées sont les méthodes normalisées ISO et normes algériennes (NA). Les protocoles et les références sont décrits dans la partie méthodes dans le document. Les détails et les normes disponibles sont mises à disposition du lecteur dans les annexes de ce document.

L'échantillonnage a été réalisé en fonction des moyens (9 barres de fromages tous les mois) offerts pour l'étude par la fromagerie mais aussi en fonction des moyens matériels et du temps imparti pour la réalisation et le suivi des analyses.

Les barres de fromages ont été prélevées en date du 12/12/2006 et avaient une durée de vie définie par l'industriel de 3mois. Les barres qui devaient servir au test de vieillissement ont été stockées dans la chambre froide de la fromagerie dans des conditions réelles de stockage. Avant chaque série d'analyses, soit une fois tous les quinze jours, un nouveau prélèvement était réalisé (Il est cependant important de tenir compte lors de pareille expérience des cas particuliers qui peuvent se produire lors de rupture de la chaîne de froid ou au niveau de la distribution ou dans le frigidaire de la ménagère).

Les analyses physicochimiques sur le fromage « MAGIVACHE » ont permis d'évaluer les taux de matière grasse, (MG) et les extraits secs (ES) à chaque analyse. Des variations respectives de 13 à 14 % (MG) et 39 à 40 % (ES) ont été enregistrées. Ces valeurs doivent être conformes aux valeurs mentionnées au niveau de l'étiquetage de l'industriel mais aussi conformes aux exigences du codex alimentarius.

Ainsi nous pouvons observer que les valeurs matière grasse / extrait sec sont conformes aux normes du Codex (39% d'extrait sec) mais pas à l'étiquetage qui mentionne 38% MG / ES.

Les produits ont donc montré une stabilité tout au long de leur durée de vie avec quelques légères variations au niveau des valeurs de la matière grasse et du pH, ceci peut être expliqué par le manque de standardisation de la matière première qui permet d'avoir des concentrations initiales en matière grasse et extrait sec pour pouvoir obtenir un taux de MG/ES qui correspond à l'étiquetage. Le choix des fournisseurs en fonction d'un cahier de charge bien établi est une garantie supplémentaire de la stabilité du produit offert. Ce facteur dépend des aléas que rencontrent les industriels à s'approvisionner en matières premières.

Des recommandations pour corriger cet aspect ont été proposées à l'industriel comme la standardisation de la matière première, l'utilisation de matières grasses animales

Au niveau microbiologique, la recherche des germes spécifiques est définie dans Journal Officiel Algérien n°35 du 27/05/1998 (réglementation et normes). Aucune contamination microbienne (pour les germes recherchés) n'a été mise en évidence au cours des différents tests de stabilité sur les produits finis échantillonnés. Ceci peut s'expliquer par le fait que lors de la fabrication du fromage fondu, le produit est soumis à une température avoisinant les 90°C pendant 5mn qui permet de tuer les formes végétatives des bactéries et un refroidissement rapide qui inhibe la germination des spores. Le produit est stabilisé et conservé au froid pendant toute sa durée de vie. A ce stade, le produit ne peut être contaminé que si le procédé technologique est inadéquat ou s'il y'a recontamination lors de rupture de la chaîne de froid, ou rupture du conditionnement. Ainsi nos résultats ont montré que le produit est resté stable au niveau microbiologique pendant les trois mois de la durée de vie et pendant un quatrième mois (période de sécurité accordée au consommateur)

Au terme de cette période, les analyses réalisées sur les produits ont révélé, dès l'ouverture des barres de fromages, la présence de moisissures. A cette date soit 5 mois après fabrication; les altérations ont commencé à apparaître et nous pouvons considérer que le produit, à ce moment est périmé voire non conforme.

La qualité microbiologique de l'air et des surfaces est primordiale en agroalimentaire. L'air extérieur contient des particules vivantes : levures, moisissures et bactéries. Des valeurs de quelques centaines de moisissures et de 200 à 1500 bactéries par m³ sont courantes. En raison de la diversité des situations, il est difficile d'édicter des règles générales; Nous tenons à rappeler ici que le but du contrôle de l'aérobiocontamination est de quantifier et de qualifier la flore microbienne

présente dans l'air (bactéries, levures et moisissures) afin de vérifier que les moyens mis en œuvre pour prévenir tout risque de contamination du produit sont efficaces

Il n'existe pas de normes concernant les valeurs limites (sur la contamination aéroportée) à ne pas dépasser en secteur alimentaires. C'est l'évolution des résultats des contrôles réalisés qui seront les indicateurs et les témoins d'alerte. Quelques valeurs sont publiées mais ne sont à considérer que comme des indications de travail.

Pour la flore mésophile, il est admis que des taux d'unités formant colonies (ufc) égaux à :

<10 ufc : zone ultra-propre

<100 ufc : zone très propre

<1000ufc : zone normale - peu d'activité

<5000 ufc : zone normale - grande activité

D'autres recommandations existent notamment celle de l'ASPEC n°78-07, qui eux distinguent 3 classes:

Classe A: moins de 50 ufc /m³

Classe B: entre 50 et 200 ufc /m³

Classe C: entre 200 et 500 ufc /m³

Ces valeurs peuvent varier de 1 à 1000, et sont fonction du niveau de risque

Il s'agit d'estimation globale, il est à l'industriel de fixer ses critères internes d'hygiène et d'améliorer ses performances sur cet aspect.

La salle de préparation et la salle du conditionnement (salle 1) sont les plus contaminées. Dans ces ateliers, les matières premières sont préparées, mélangées dans des conditions favorables au développement des microorganismes.

De même, il est recommandé de ne pas trouver de coliformes totaux (<10 ufc) et encore moins de coliformes fécaux (<1ufc) qui sont les indicateurs d'une contamination fécale intolérable dans une industrie agro-alimentaire. Pour rappel, il s'agit de germes présents dans le tube digestif de l'homme et des animaux. Parmi les mesures correctives, un plan de nettoyage et désinfection ainsi que la sensibilisation du personnel à l'hygiène comportementale est à souhaiter dans cette entreprise. La présence de moisissures dans les salles de préparations, conditionnement 1 et conditionnement 2 a été mise en évidence mais pas dans la salle de stockage.

Les moisissures sont des germes sporulés, ce qui explique que si, une spore a résisté au traitement/conditionnement, celle-ci peut se développer dans le fromage au cours d'un long stockage ou lors d'une recontamination. Ce qui expliquerait probablement la présence d'altérations liées aux moisissures dans le fromage en barres après cinq mois. Par contre aucune de la flore mésophile, ni des coliformes n'a résisté aux traitements thermiques (90°C pendant 5mn) ce qui explique leur absence dans le produit fini.

Il est à noter que quand on détecte des ufc, c'est que la contamination est vraisemblablement forte. Quand on ne détecte pas d'ufc, cela ne veut pas dire qu'il n'y en a pas. C'est pourquoi "si ces techniques renseignent bien sur la saleté des surfaces, elles renseignent mal ou pas du tout sur leur propreté». (www.liste-hygiene.org, consulté le 3 Juin 2007).

Une des recommandations à l'industriel est de corriger le défaut par des procédures de nettoyage et de désinfection des salles de conditionnement mais surtout d'éliminer la présence d'emballage en cartons dans ces salles. Les cartons, bien répandus dans les ateliers de nos industriels sont des sources de contaminations et les principaux vecteurs de moisissures.

Les challenges tests s'inscrivent dans le cadre du règlement (CE) n° 2073/2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires. Celui-ci fixe les critères de sécurité alimentaire pour *Listeria monocytogenes* dans les denrées alimentaires prêtes à être consommées. Notre objectif premier était d'étudier la croissance de cette bactérie dans le fromage fondu « MAGIVACHE » pour mettre en application les avis des agences de sécurité alimentaire. Compte tenu des exigences de sécurité et autres facteurs externes, nous n'avons pas pu obtenir de souches de *Listéria* mais nous avons étudié la croissance d'un *E coli* O157 pathogène qui comme *Listeria monocytogènes* est un contaminant des produits laitiers à l'origine de toxi-infections humaines.

Le protocole choisi (niveaux de l'inoculum, taille de l'aliment, procédé de l'inoculation) est basé et inspiré du protocole proposé dans le rapport publié sur la mise en œuvre des challenge tests (DAUBE, 2006).

Les résultats sont exprimés en logarithme base 10 du nombre d'ufc par gramme de produit testé. Pour chaque lot, le potentiel de croissance est constitué de la différence entre le résultat le plus élevé en logarithme base 10 du dénombrement réalisé à la DLC et celui le plus bas réalisé au jour 0.

La valeur obtenue est interprétée après lecture du tableau ci-dessous

| Différence la plus grande observée | Valeur de tolérance le jour 0 |
|------------------------------------|----------------------------------|
| Entre 1,00 et 0,00 | Absence dans 0,01 g ou 100 ufc/g |
| Entre 0,00 et 0,99 | Absence dans 0,1g |
| Entre 1,00 et 1,99 | Absence dans 1 g |
| Entre 2,00 et 2,99 | Absence dans 10g |
| Au-delà de 2,99 | Absence dans 25g |

Tableau n°07 : Interprétation des valeurs de tolérance

La courbe montrant l'évolution de la souche inoculée au fromage est décroissante. Le potentiel de croissance évalué pour les deux barres est compris entre 0,30 et 0,40 ce qui veut dire que la valeur limite ne peut dépasser 100 ufc à la fin de la durée de vie, ce qui montre que le produit ne présente aucun risque pour *Listeria* si la souche inoculée avait été une *Listeria monocytogènes* et que le critère <100ufc peut être utilisée dès la sortie de production. Ces résultats « aucun risque à la sortie de production » sont valables pour *Listeria* mais il faut les interpréter avec prudence pour la souche d'*E.coli* pathogène inoculée dans cette étude car la dose infectieuse de la bactérie étant très faible, sa présence à la sortie de production est réellement un risque pour la sécurité.

Par ailleurs, il est important de considérer la deuxième approche qui monte que la courbe de survie de la souche *E coli* est décroissante dans les conditions intrinsèques du fromage testé. Cette dernière approche est à mettre en pratique chez nos industriels car à partir de la connaissance et la maîtrise des caractéristiques physicochimiques du produit, ceux-ci peuvent, avec l'aide de professionnels, éliminer ou réduire le risque qu'ils auront identifié dans leurs industriels en modifiant un des paramètres physicochimiques. Des logiciels sont actuellement en développement pour cet aspect.

CONCLUSION

Notre étude nous a permis de suivre la stabilité et la durée de vie d'un fromage fondu à travers les études de vieillissement suivies de tests de croissance pour un pathogène ou challenge test. Le produit est resté stable tout au long de sa durée de vie et au-delà de la période de sécurité. Cependant quelques points critiques dans l'industrie liés à la présence de coliformes et de moisissures dans les salles de préparation et de conditionnement ont été identifiés. Le traitement thermique utilisé lors du process élimine les germes identifiés. Notre étude est une application expérimentale nouvelle qui nous a permis de réunir toutes les données qui une fois exploitées permettront aux industriels d'offrir des produits de qualité, stables et répondant aux critères de sécurité tout au long de leur vie.

Cette approche permet également aux autorités chargés du contrôle des produits de répondre à la question difficile : lorsqu'un produit analysé contient un nombre de germes inférieur aux critères à la production donc conforme, le sera-t-il à la fin de sa vie ?

Notre étude s'inscrit dans les objectifs de notre économie selon laquelle la protection du produit algérien ne peut se faire avec les barrières douanières et que seule la promotion du produit algérien et sa mise à niveau sont en mesure de le prémunir contre les effets néfastes de la concurrence.

Références bibliographiques :

Les sites :

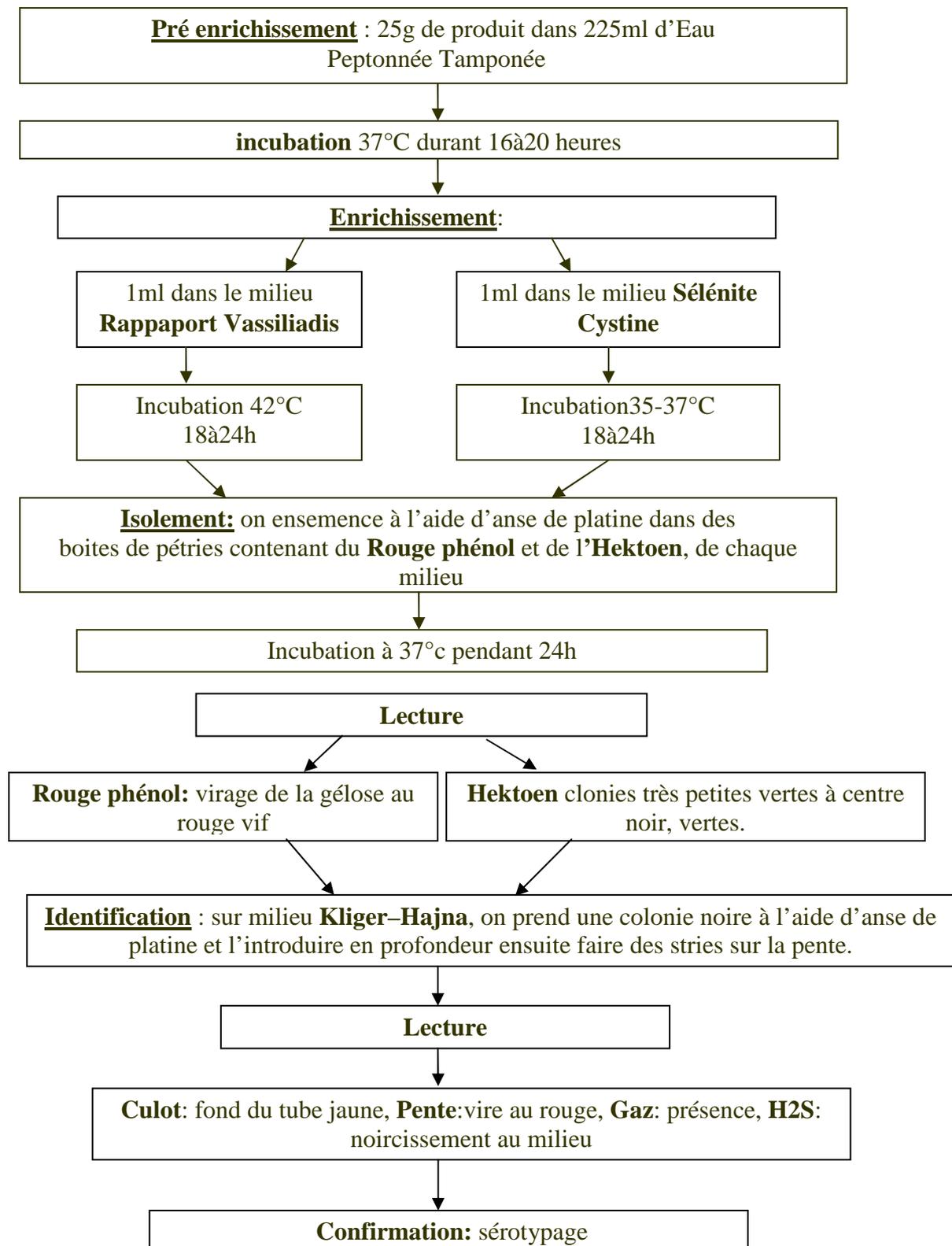
- Les fromages fondus, un peu de culture
<http://www.cniel.com/prodlait/FROMAGE/FONDUS/Fondus1.html>
consulté le 11/11/2006 à 15:22 h
- Fabrication du fromage.
www.fao.org/DOCREP/004/x6551F/x651F01.htm
consulté le 15/03/2006 à 14:30 h
- Ordonnance du DFI sur les additifs autorisés dans les denrées alimentaires (Ordonnance sur les additifs, OAdd) du 27 mars 2002 (Etat le 22 février 2005)
www.bag-anw.admin.ch/SLMB_Online_PDF/Gesetzestexte/BAG_PDF_3Sprachen/PDF_BAG_F/817.021.22.fr.pdf
consulté le 25/09/2006 à 10:32h
- Hygiène alimentaire, Le risque alimentaire, essentiellement hydrique
<http://www.cimed.org/page.asp?id=42>
consulté le 24/01/2007 à 13:15h
- CODEX ALIMENTARIUS
www.codexalimentarius.net
consulté le 02/02/2006 à 15:47h
- La fabrication du fromage, les connaissances
http://www.inra.fr/la_sciences_et_vous/apprendre_experimenter/aliments_fermentes/le_fromage/la_fabrication_du_fromage_les_connaissances
consulté le 05/04/2006 à 11:20h
- Analyse challenge-tests
www.pasteur-lille.fr/fr/expertises/alimentaire/challenge_test.htm
consulté le 16/11/2006 à 19:11h

- Tests de vieillissement et analyse à la DLC
www.idac.fr/NASApp/IDAC/agroalimentaire/fiche3
consulté le 18/05/2007 à 22:14h
- Durée de vie microbiologique
http://fcserv.fmv.ulg.ac.be/mdaoa/mdaoa_home_fr.htm
consulté le 10/01/2007 à 20:13h
- Les dates limites
<http://www.restocours.net/Legislation/dlc.htm>
consulté le 26/02/2007 à 18:56h
- Listeria
<http://fr.wikipedia.org/wiki/Listeria>
consulté le 14/06/2007 à 10:53h
- Concepts généraux et définitions de la qualité : la qualité du produit
www.enpc.fr/fr/formations/ecole_virt/trav-eleves/QFS/Concepts_generaux_et_definitions_de_la_qualite.htm consulté le
05/06/2007 à 16:24h
- Archive des messages du forum hygiène concernant les prélèvements de surface et les kits de détection des germes
www.liste-hygiene.org/arckits.html consulté le 3 Juin 2007 à 14 :23h
- RAPPORT commun de l'académie des technologies et de l'académie d'agriculture de France intitulé «progrès technologiques au sein des industries alimentaires impact sur la qualité des produits2003)
www.Academie-technologies.fr/publications/ consulte le 06/06/2007 à 16 :30h

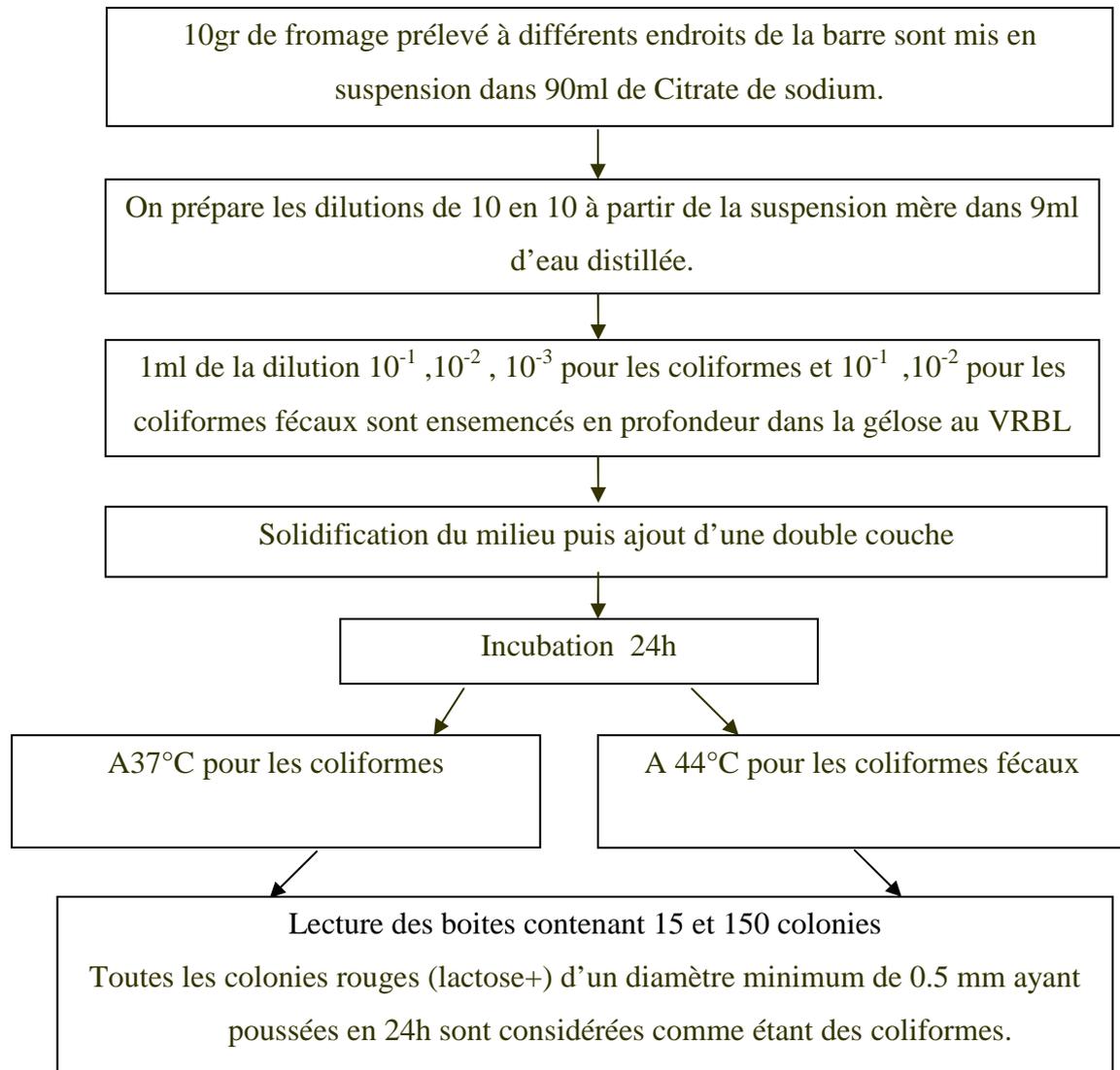
Les ouvrages :

- **BOURGEOIS C.M, MESCLE J.F et ZUCCA J.1996** : Microbiologie alimentaire Tome 1, 2^{ème} édition, aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Lavoisier. Technique et documentation. Page 9
- **BOURGEOIS.C.M, J.F MESCLE et J.ZUCCA 1990** : Microbiologie alimentaire Tome 1, aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Lavoisier Technique et documentation. Pages 4 à 11.
- **CAROLE L.Vignola. 2002** : Science et technologie du lait. éditrice scientifique. Montreal, presses internationales. Page 350.
- **DAUBE.G.14 -15 septembre 2006**: Eleventh Conference on Food Microbiology. University of Ghent. University of Liege, Faculty of veterinary medicine Belgium. Pages 42 à 65.
- **ECK A, GILLIS J.C.1997** : Le fromage.3^{ème} édition Lavoisier. Technique et documentation édition. Pages 693 à 707.
- **LEVEAU. J.Y, BOURGEOIS C.M**, Techniques d'analyse et de contrôle dans les bios industries.
- **LUQUET F.M. 1990** : Lait et produits laitiers vache, brebis, chèvre. Volume2.Les produits laitiers Transformation et technologie édition Lavoisier. Technique et documentation. Pages 253 à 259.
- **LUQUET F.M et BOUIER J.F.1981** : Dictionnaire laitier. 2^{ème} édition. Page 31
- **PAUL SINGLETON .2005** : Bactériologie pour la médecine, la biologie et la biotechnologie. 6^{ème} édition, DUNOD. Pages 41 à 53
- **ROZIER J, CARLIER V, BOLNOT F.1985** : bases microbiologiques de l'hygiène es aliments. SEPAIC édition. Pages 19, 45,64 et 153.
- **WOLFGANG.B, HENNING.K, KARL.M, GERD.U. 1991** : la fabrication du fromage fondu. BK Ladenburg. Guide JOHA. Pages 133-134

▪ Recherche des salmonelles : ISO 6888 NA 15164 (2004)

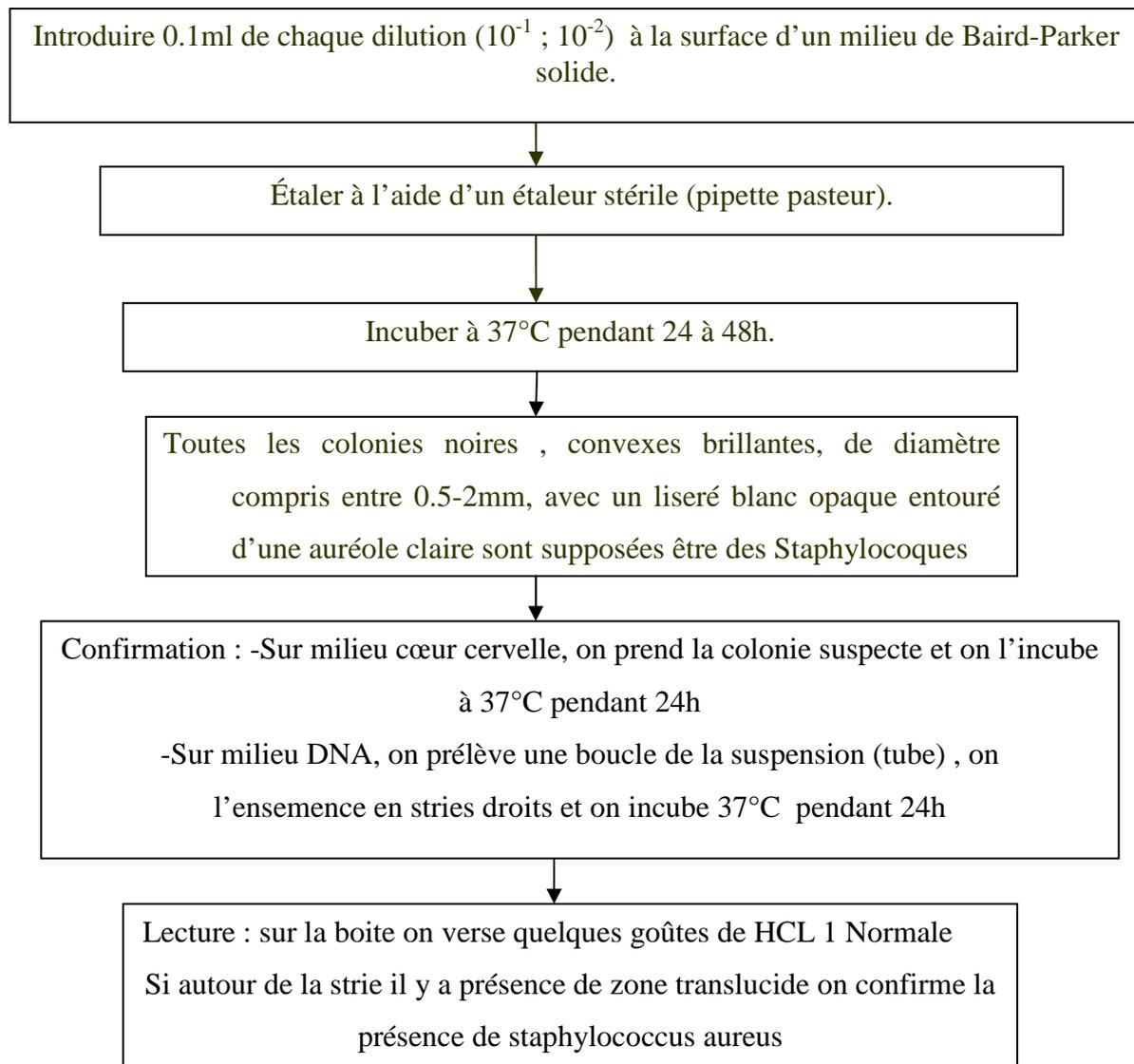


▪ **Recherche des coliformes : ISO 4832**



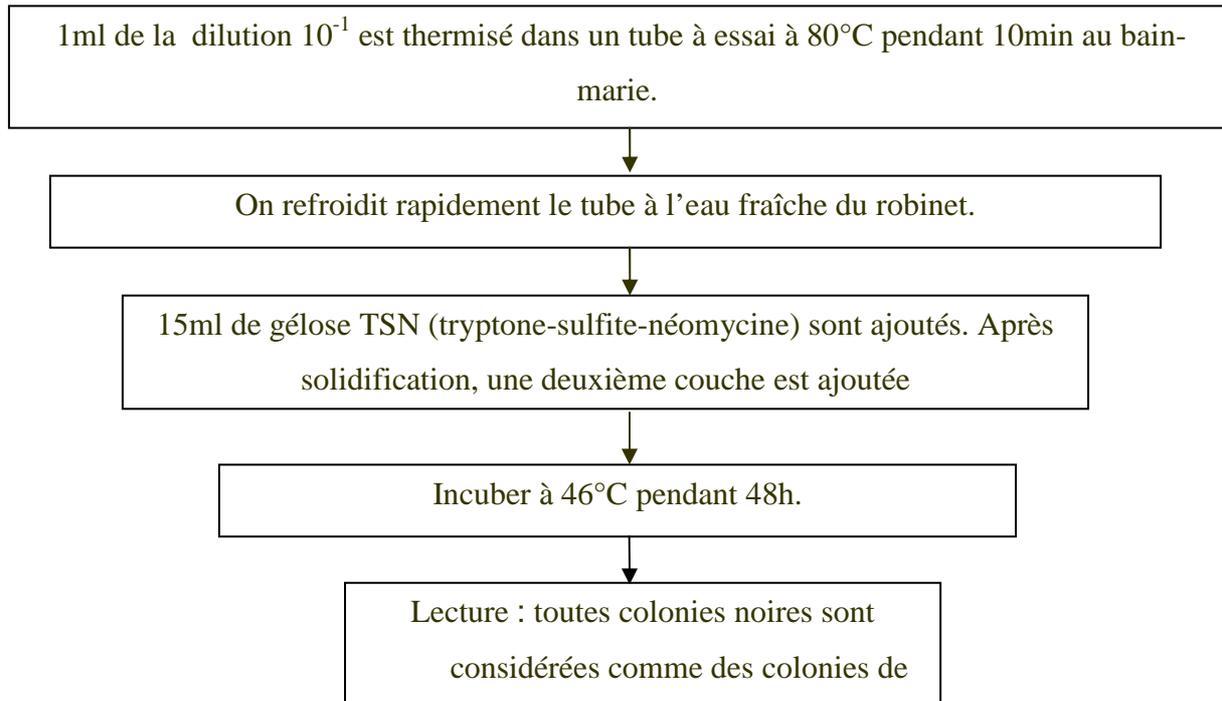
Protocole de recherche des coliformes

▪ **Recherches des staphylocoques : ISO 6579 NA 1203 (1990)**



Protocole de recherche des staphylocoques

▪ **Recherche des clostridies : ISO 15213 2003**



Protocole de recherche des clostridies

Résumé :

Le fromage fondu est un aliment périssable, riche en protéines et éléments nutritifs. Il est apprécié et largement commercialisé dans les pays en voie de développement et particulièrement les pays chauds. Néanmoins, il doit répondre à certaines exigences d'étiquetage (DLC, MG/ES) et aux critères légaux. Sa stabilité présente un intérêt économique certain. Dans ce but, des barres de fromage fondu « MAGIVACHE » d'un même lot ont été prélevées et soumises aux tests de vieillissement pendant toute la durée de vie du produit. Les analyses physicochimiques et bactériologiques ont montré que le produit est resté stable avec de légères variations au niveau des taux de matières grasses. Une évaluation de l'hygiène de la fromagerie a révélé la présence de coliformes et de moisissures dans les salles de préparation et de conditionnement. Les études de croissance ou challenge tests réalisés après inoculation d'une concentration connue d'une souche pathogène de *E.coli* dans les fromages ont mis en évidence une diminution du nombre de germes (courbe décroissante) avec un potentiel de croissance de 0,35.

Mots clés : fromage fondu, durée de vie tests de vieillissement, challenge tests, hygiène

Summary:

The cheese spread is a perishable food, rich in nutritive proteins and elements. It is appreciated and largely marketed in the countries in the process of development and particularly the countries hot. Nevertheless, it must answer certain requirements of etiquette (DLC, MG/ES) and the legal criteria. It's stability is of economic interest to this end some cheese spread bars "magivache" of the same batch was taken and subjected to the tests of ageing during all the life span of the product. The physico-chemical and bacteriological analyses showed that the product remained stable with light variations on the level of the fat content rates. An evaluation of the hygiene of the cheese dairy revealed the presence of coliformes and moulds in the rooms of preparation and conditioning. The studies of growth or challenge tests carried out after inoculation of a known concentration of a pathogenic strain of *E.coli* in cheeses highlighted a reduction in the number of germs (decreasing curve) with a growth potential of 0,35.

Key words: cheese spread, lifespan tests of ageing, challenge tests, hygiene

الملخص :

إن الجبن الذائب غذاء قابل للتلف، و يعتبر من الأغذية الغنية بالبروتينات و العناصر الغذائية. حيث يفضلهُ الكثير من الناس و يسوق إلى حد كبير في البلدان السائرة في طريق النمو خاصة البلدان الحارة. و مع هذا يجب أن يخضع إلى بعض الشروط و المواصفات المعايير القانونية (تاريخ نهاية الصلاحية، المستخلص الجاف). استقراره يشكل أهمية اقتصادية أكيدة. من أجل هذا الغرض كُتِل من الجبن الذائب "ماجيفاش" من مجموعة معينة و أجريت عليها اختبارات الشيخوخة خلال مدة صلاحية الجبن. أثبتت التحاليل الفيزيائية الكيميائية و البكتريولوجية أن الجبن مستقر مع بعض التغيرات الطفيفة في نسبة المادة الدسمة. تقييم نظافة محيط المجبة أظهر وجود الكوليفورم و العفن. أثبتت دراسات النمو وهي الإختبارات التي أجريت بعد تلقيح الجبن بكمية معروفة مسبقاً من بكتيريا *E. coli* الممرضة عن انخفاض عدد البكتيريا (منحنى متناقص) مع إمكانات نمو بقيمة 0.35.

كلمات أساسية : الجبن الذائب، دراسة الشيخوخة، دراسة النمو، تقييم نظافة محيط.

