



UNIVERSITÉ D'ÉTAT D'HAÏTI

(U.E.H)

FACULTÉ D'AGRONOMIE ET DE MÉDECINE VÉTÉRINAIRE

(F.A.M.V)

Département des Sciences et Technologie des Aliments

(D.S.T.A)

«Identification des méthodes de prévention des accidents de contamination à Mucor sp. dans le fromage».

Mémoire présenté par: PREDVIL Wandly
Pour l'obtention du titre d'Ingénieur-Agronome
Option: Sciences et Technologie des Aliments

Avril 2014

Ce mémoire intitulé:

«Identification des méthodes de prévention des accidents de contamination à *Mucor* sp. dans le fromage».

A été approuvé par le jury composé de:

Signature

Date

X

Steve LABRIE
Membre, Conseiller scientifique

X

X

Jean AMIOT
Membre du jury

X

X

Joseph MAKHLOUF
Membre du jury

X

«Identification des méthodes de prévention des accidents de contamination à *Mucor* sp. dans le fromage».

DÉDICACE

Ce travail est dédié:

- 1) À Dieu qui me donne du courage de faire des sacrifices pour la réalisation de ce travail;
- 2) À ma famille, particulièrement mon père Webert PREDVIL, ma belle-mère Rita Bijou, mes frères et sœurs Rémy PREDVIL, Waldes PREDVIL, Venette MESIDOR et Sophia PREDVIL qui m'ont toujours soutenu, tant sur le plan moral et financier, et qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui;
- 3) À M. Yvens PHILIZAIRE mon professeur à la FAMV, et à M. Harold CORANTIN le directeur du DSTA;
- 4) À tous ceux et celles, particulièrement les étudiants de la STA, qui vont se servir de mon mémoire comme un outil de recherche;
- 5) À ma femme Wideline PETIT-HOMME et à ma petite fille Wanderline PREDVIL;
- 6) Et à tous mes amis, qui d'une façon ou d'une autre, m'ont aidé à prendre mes études en main jusqu'à l'obtention du diplôme d'ingénieur Agronome.

REMERCIEMENTS

- ❖ Au créateur de cet univers qui a été toujours avec moi dans la réalisation de ce travail et qui m'a donné les connaissances acquises pour la finalité de ce travail;
- ❖ À mon père, Webert PREDVIL, et mon Beau-père, Prospère PETIT-HOMME, pour leur soutien moral et financier;
- ❖ À mon conseiller scientifique, Steve LABRIE, Professeur agrégé de la Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation, Dép. sciences des aliments et de nutrition de l'Université Laval, qui se montre très soucieux, patient et très intéressé à la réalisation de ce mémoire;
- ❖ À Pierre-Mathieu CHAREST, Vice-doyen à la Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation, Dép. de phytologie de l'Université Laval;
- ❖ À Amélie PERIN, Agente de recherche et de planification, Bureau international de l'Université Laval;
- ❖ À mes collègues César JOURDANY, Clarc Chedzer CLEMENT, Phendy JACQUES et Alla-Claude JOSEPH;
- ❖ À tous les professeurs de la FAMV qui participent à ma formation universitaire, spécialement Yvens PHILIZAIRE, Alcindor EWALD et à mon directeur de département Harold CORANTIN;
- ❖ À ma femme Wideline PETIT-HOMME pour son soutien moral et à ma petite fille Wanderline PREDVIL;
- ❖ À mes oncles Garry PREDVIL et Sylvestre PREDVIL pour leur support;
- ❖ À mes cousins et cousines;
- ❖ À mes amis Datson JOANIS et Lincolson DELVA;
- ❖ Au responsable du Ministère des Affaires étrangères et du Commerce international (MAECI) du Canada.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Les différentes espèces de <i>Mucor</i> sp rencontrées.....	4
Tableau 2: Résumé des conditions de croissance nécessaires à <i>Mucor</i> sp.....	6
Tableau 3: Croissance comparée de <i>Mucor globosus</i> et des souches de <i>Penicillium caseicolum</i> en fonction de la température et du temps.....	7
Tableau 4: Croissance comparée de <i>Mucor globosus</i> et des souches de <i>Penicillium caseicolum</i> en fonction du pH et du temps.....	8
Tableau 5: Morphologie comparée des principales espèces de <i>Mucor</i>	13
Tableau 6: Composition moyenne du fromage pour 100	14
Tableau 7: Les différentes familles de fromage et leur description.....	20
Tableau 8: Contamination microbienne du lait par la peau des mamelles.....	23
Tableau 9: Contamination microbienne du lait par les installations de traite.....	24
Tableau. 10.: Spectre d'activité des principales familles de désinfectants.....	30
Tableau 11: Caractéristiques des différents résidus alimentaires.....	31
Tableau 12: Résistance à la saumure de certains micro-organismes	36
Tableau 13: Représentation des différentes températures d'affinage de différents fromages.....	36
Tableau 14: Les paramètres de croissance du <i>Geotrichum candidum</i>	41

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Le cycle de reproduction sexuée et asexuée à <i>Mucor</i> sp.....	5
Figure 2: Présence des <i>Mucor</i> sp. avec des thalles longs (poils de chat) dans un fromage de chèvre.....	10
Figure 3: Diagramme de fabrication du fromage.....	15
Figure 4: Diagramme de criticité sur l'hygiène générale des locaux	19
Figure 5: Functions and effects of salts on cheese. The shaded ovals summarise the function and effect of salt in cheese, while the non-shaded ovals indicate how salt contributes to these	28
Figure 6: Evolution of microbial flora of Roquefort cheese (surface: 1; centre: 2). a: 21h after rennet; b: in warm room (18 °C); in cold room (10 °C); d: before salting; e: after salting (from Devoyod and Bret).....	33
Figure 7: Système de traçabilité de fonctionnement dans un processus de fabrication de produits.....	34
Figure 8: Bonnes pratiques d'hygiènes et HACCP (<i>Hazard Analysis Critical Control Point</i>)	37

LISTE DES SIGLES: SYMBOLES ET ABRÉVIATIONS

7M:	Main-œuvre, Matières premières, matériel, Méthode de travail, Milieu, Monétaires et Management.
a_w :	Activité de l'eau
BPF:	Bonnes pratique de fabrication
BPH:	Bonnes pratiques d'hygiène
CCP:	Points critiques de contrôle
FF:	Fromage frais
HACCP:	Hazard Analysis and Critical Control Points
HR:	Humidité relative
ISO:	Organisation internationale de Normalisation
ITIS:	Institut Technologies de l'information et Sociétés
NCBI:	National Center for Biotechnology Information
°C:	Degrés Celsius
pH:	Potentiel d'Hydrogène
PMCF:	Fromage à pâte molle et croûte lavée
PP:	Fromage à pâte persillée
PPC:	Fromage à pâte pressée non cuite
t:	Temps
T:	Température
UI:	Unité internationale
UV:	Ultra Violet

RÉSUMÉ

Les fromages sont très vulnérables face au danger d'accidents de contamination dus aux microorganismes, plus spécifiquement les moisissures. Parmi les moisissures rencontrées dans le fromage trois principaux ordres sont plus fréquents ; ce sont les *Mucorales*, les *Penicillium* et les *Aspergillus*. Dans le présent mémoire, l'ordre des *Mucorales* sera l'intérêt principal. Connaissant les espèces responsables des accidents de fromagerie, la prévention et la lutte peuvent s'effectuer par des méthodes simples et précises tout en permettant la réduction de la fréquence des accidents causés par le genre *Mucor* sp.

Lors d'accident par *Mucor* sp. dans le fromage, leur présence se manifeste de deux façons, soit une forme «bénigne» et une forme «aiguë». Lors de leur développement en surface du fromage, les moisissures apparaissent comme des thalles longs (poil de chat), de longueur variant entre 3 et 15 mm. Cette apparition débute toujours par une contamination du produit, mais l'apparition est favorisée par un fromage trop humide, ou insuffisamment salé, soit une condensation en surface de fromage provenant de l'humidité excessive de la cave, et enfin un *Penicillium* sp. trop lent à se développer et un *G. candidum* mal implanté ou peu développé. Afin de résoudre le problème de contamination, il faut en tout premier lieu, identifier les espèces causant la problématique et déterminer les sources de contamination. En second lieu, il est nécessaire d'analyser l'air ambiant et ensuite prendre les mesures d'hygiène nécessaires dans les locaux, au niveau du personnel et aussi de contrôler la fabrication et la traçabilité du produit afin de diminuer les risques. L'ensemencement et l'implantation de compétiteurs des *Mucor* sp. (microflore bactérienne ou fongique d'affinage) dans le fromage peuvent également contribuer au contrôle des moisissures contaminantes.

En appliquant toutes ces méthodes et précautions, les risques d'accidents de contamination seront moindres. En plus, la valeur marchande du fromage sera plus intéressante. Cependant, il y a certaines espèces des *Mucor* sp. qui ont des bienfaits dans certaines fabrications fromagères ou autres industries alimentaires.

Table des matières

DÉDICACE	iii
REMERCIEMENTS.....	iv
LISTE DES TABLEAUX.....	v
LISTE DES FIGURES	vi
LISTE DES SIGLES: SYMBOLES ET ABRÉVIATIONS.....	vii
RÉSUMÉ	viii
I. INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
1.1 Problématique.....	1
1.2 But de l'étude.....	3
1.3 Objectifs de l'étude.....	3
1.3.1 Objectif général.....	3
1.3.2 Objectifs spécifiques.....	3
1.4 Intérêt de l'étude	3
2 REVUE DE LA LITTÉRATURE.....	4
2.1 <i>Mucor</i> sp.....	4
2.1.1 Classification et forme de reproduction.....	4
2.1.2 Conditions de croissance des <i>Mucor</i> sp.....	6
2.2 Causes d'accidents à <i>Mucor</i> sp. dans le fromage	8
2.3 Effets d'accidents à <i>Mucor</i> sp. dans le fromage et leurs conditions développement.	9
2.3.1 Les particularités biologiques des <i>Mucor</i> sp.....	12
2.3.2 Composition physico-chimique du fromage et les techniques de fabrication 14	14
3 MÉTHODES DE PRÉVENTION ET DE LUTTE.....	21
3.1 Méthodologie	21
3.1.1 Identification des espèces à <i>Mucor</i> sp. responsables de l'accident	21
3.1.2 Détermination des sources de contamination	21
3.1.2.1 Diagnostic de la matière première (lait).....	22
3.1.2.2 Diagnostic des installations de transformation ou de conditionnement ..	23
3.1.2.3 Diagnostic des techniques de fabrication.....	25

3.1.3	Analyse de l'air ambiant.....	25
3.1.4	Les mesures d'hygiène	26
3.1.4.1	Mesures d'hygiène des locaux.....	26
3.1.4.2	Mesures d'hygiène des surfaces de travail	29
3.1.4.3	Formation et hygiènes du personnel (qualité).....	31
3.1.5	Mesure de contrôle de la fabrication et la traçabilité du produit.	32
3.1.6	Techniques physico-chimiques.....	35
3.1.6.1	Diminution de la pression osmotique du fromage par le sel.	35
3.1.6.2	Modification de la température de la cave de l'affinage.....	36
3.1.6.3	Modification du pH.....	37
3.1.7	Les compétiteurs de <i>Mucor</i> sp.	37
3.1.7.1	Ferments d'affinage	38
3.1.7.1.1	La microflore bactérienne	38
3.1.7.1.1.1	Les bactéries lactiques.....	38
3.1.7.1.1.2	Les bactéries propioniques	38
3.1.7.1.1.3	Les bactéries de surface.....	39
3.1.7.1.2	La microflore levure	39
3.1.7.1.3	La microflore fongique, les <i>Penicillium</i>	41
3.1.8	Traitement du fromage.....	42
4	CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	43
4.1	Conclusion.....	43
4.2	Recommandations	44
5	RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	45

I. INTRODUCTION GÉNÉRALE

1.1 Problématique

Selon le congrès de Genève en 1910, le lait se définit comme le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée (Konte, 1999). Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum. Plus récemment, Amiot et al. (2010) définissent plutôt, le lait comme étant le produit de sécrétion des glandes mammaires des mammifères, comme la vache, la chèvre et la brebis, destiné à l'alimentation du jeune animal naissant. Grenon et al. (2004) font une précision sur la qualité du lait, en se basant, sur ses caractéristiques physiques, chimiques et microbiologiques. Cette qualité doit être irréprochable puisque le lait est la matière première du fromage. Par ailleurs, les propriétés de conservation et fonctionnelles du lait sont des éléments complémentaires qui contribuent également à la qualification de sa qualité et qui doivent être considérées lors de sa transformation.

L'origine du fromage a été rapportée à plusieurs reprises, l'histoire suggère qu'un berger a probablement récupéré l'estomac d'un jeune animal, qu'il le nettoya sommairement et décida de s'en servir pour entreposer le lait d'une traite. Il constata après quelques jours que ce liquide s'était transformé en une autre substance, du lait fermenté, comme il s'en fabrique encore de nos jours chez certaines peuplades nomades. On considère cette histoire comme les prémices de la fabrication du fromage. Cette découverte aurait été faite dans la région du Moyen-Orient, pendant une période variant entre 15000 ou 20000 années avant J.-C. (cité par Janier, 2008). Cette découverte accidentelle s'est révélée bénéfique pour le monde, spécialement pour les éleveurs, les industries laitières et enfin les consommateurs.

Le lait de qualité permettra de produire un fromage de qualité. En effet, le lait est l'ingrédient de base de la fabrication fromagère et le procédé de transformation ne peut rectifier un lait de mauvaise qualité. Le fromage est un milieu très riche du point de vue nutritif, mais peut favoriser le développement des microorganismes indésirables. Le fromage est donc très sensible aux microorganismes pathogènes et à la microflore d'altération. Sa sensibilité peut conduire à différents cas d'accidents; accidents du «bleu»

(*Penicillium roqueforti*, *P. camemberti*, *P. janthinellum*, *P. brevicompactum* et *P. viridicatum*), «**poil de chat**» (*Mucor* sp. à spores noires), «**graisse ou peau de crapaud**» (*Geotrichum candidum*), il y a aussi le «**chancre**», «**des taches orangées ou jaunes**» (*Sporandonema* sp.), des «**taches crèmes ou rosées**» (*Geotrichum fragrans*), des «**tâches brunâtres**» (*P. [bruno] violacerum*), «**goût de rance**» (*P. camemberti* ou *P. roqueforti*) (Mahaut et al., 2000). D'après Le bars-Bailly et al. (1999), les espèces contaminantes rencontrées en fromageries appartiennent à trois grands ordres:

- Les *Mucorales*
- Les *Penicilliums*
- Les *Aspergillus*

L'ordre le plus important de la présente étude est l'ordre des *Mucorales* et plus spécifiquement la famille des *Mucoraceae* (*Mucor* sp.) et qui en sera le sujet principal. Bien qu'il soit d'intérêt, le présent document n'abordera pas la problématique des bactéries et autres microorganismes pathogènes ou altérants qui sont aussi d'importance pour la filière fromagère. En fait, les *Mucor* sp. font partie de la microflore d'altération, parce qu'elles causeront des défauts sensoriels de goût et d'arôme, d'apparence ou de texture qui réduiront la durée de vie de tablette du produit laitier (Amiot et al., 2010).

Les accidents de fromagerie aux moisissures peuvent avoir différentes sources; au niveau du matériel de traite du lait, des récipients de stockage, du matériel de transformation, du matériel de conditionnement, du personnel, de l'environnement de production du fromage, de la contamination initiale du lait et la cave où la fromage doit être affiné.

Les contaminations aux moisissures sont à l'origine de perte économiques en fromagerie. C'est pourquoi il est nécessaire de prendre beaucoup de précautions pour éviter les accidents en établissant des méthodes de lutte et de prévention contre les moisissures et plus spécifiquement *Mucor* sp.

1.2 But de l'étude

Le but de l'étude est d'identifier les méthodes de prévention permettant de réduire les accidents à *Mucor* sp. dans les fromageries en effectuant une synthèse de la littérature pertinente.

Pour ce faire nous avons établi les objectifs suivants;

1.3 Objectifs de l'étude

1.3.1 Objectif général

- Prévenir les accidents à *Mucor* sp. lors de l'affinage du fromage.

1.3.2 Objectifs spécifiques

- Identifier les espèces des *Mucor* sp. les plus rencontrées dans le fromage et celles qui le sont le moins.
- Mentionner les paramètres et les conditions les plus favorables au développement des *Mucor* sp.
- Énumérer les compétiteurs les plus efficaces contre les *Mucor* sp. dans le domaine fromager et donner leurs conditions de développement.

1.4 Intérêt de l'étude

Cette étude permettra d'apporter une aide à l'amélioration de la qualité du fromage et pourra servir de guide pour les industries fromagères afin d'établir des contrôles de qualité réduisant l'incidence à *Mucor* sp. Ceci permettra d'éviter les accidents causés par des agents contaminants comme les *Mucor* sp., soit au niveau du personnel, soit au niveau du lait ou soit au niveau du matériel de transformation. Une amélioration de la qualité du fromage permet également d'écouler les produits à prix acceptable et de permettre aux consommateurs de déguster un fromage possédant de bonnes qualités nutritionnelles, sensorielles et microbiologiques.

2 REVUE DE LA LITTÉRATURE

2.1 *Mucor* sp.

2.1.1 Classification et forme de reproduction

Les champignons font partie des êtres vivants sur la terre, certains sont pluricellulaires et/ou d'autres sont unicellulaires. Ce sont des organismes eucaryotes, sans chlorophylle et dont l'appareil végétatif dépourvu de tiges, de racines et de feuilles, est appelé thalle. Le thalle peut être unicellulaire, dissocié et bourgeonnant (levure) ou filamenteux (Botton et al., 1985). Le genre *Mucor* sp. fait partie du règne des mycètes (fungi), division des Amastigomycota, classe des Zygomycètes, ordre des *Mucorales*, famille des *Mucoraceae*. Les genres *Rhizopus*, *Absidia* et plusieurs autres sont inclus dans cette famille. La différenciation des espèces du genre *Mucor* sp. se trouve au niveau des couleurs, l'aspect, la vitesse d'envahissement, etc. D'après Morel (2012), le genre *Mucor* comprend différentes espèces et parmi ces espèces beaucoup sont rencontrées dans les fromages. On trouve plus d'une trentaine d'espèces dans le fromage, mais certaines sont beaucoup plus fréquentes que d'autres.

Tableau 1. Les différentes espèces de *Mucor* sp. rencontrées

Les espèces de <i>Mucor</i> sp.		
<i>Mucor adventitius</i>	* <i>Mucor hiemalis</i>	<i>Mucor racemosus</i>
<i>Mucor albus</i>	<i>Mucor inaequisporus</i>	<i>Mucor ramosissimus</i>
<i>Mucor aligarensis</i>	<i>Mucor indicus</i>	<i>Mucor recurvus</i>
<i>Mucor amphibiorum</i>	<i>Mucor lausannensis</i>	<i>Mucor renisporus</i>
<i>Mucor ardhaengiktus</i>	<i>Mucor laxorrhizus</i>	<i>Mucor satuminus</i>
<i>Mucor azygosporus</i>	<i>Mucor minutus</i>	<i>Mucor sinensis</i>
<i>Mucor bacilliformis</i>	<i>Mucor mousanensis</i>	<i>Mucor strictus</i>
<i>Mucor bainieri</i>	* <i>Mucor mucedo</i>	<i>Mucor subtilissimus</i>
* <i>Mucor circinelloides</i>	<i>Mucor nanus</i>	<i>Mucor troglophilus</i>
<i>Mucor falcatus</i>	<i>Mucor oblongiellipticus</i>	<i>Mucor tuberculisporus</i>
<i>Mucor flavus</i>	<i>Mucor oblongisporus</i>	<i>Mucor ucrainicus</i>
<i>Mucor fragilis</i>	<i>Mucor odoratus</i>	<i>Mucor variabilis</i>

<i>*Mucor fuscus</i>	<i>Mucor piriformis</i>	<i>Mucor variosporus</i>
<i>Mucor genevensis</i>	<i>Mucor plasmaticus</i>	<i>Mucor virens</i>
<i>Mucor gigasporus</i>	<i>*Mucor plumbeus</i>	<i>Mucor zonatus</i>
<i>*Mucor grandis</i>	<i>Mucor prayagensis</i>	<i>Mucor zychae</i>
<i>Mucor guilliermondii</i>	<i>Mucor psychrophilus</i>	

Source: Wikipedia, tiré du catalogue of life, 2012), auxquels s'ajoutent *Mucor luteus* (NCBI, 2012) et *Mucor caninus* (ITIS, 2012);

Les espèces contaminantes les plus fréquemment rencontrées dans les fromages altérés semblent être: *Mucor racemosus*, *Mucor circinelloides*, *Mucor mucedo*, *Mucor fuscus*, *Mucor hiemalis*, *Mucor plumbeus*, *Mucor globosus* (Le Bars-Bally, 1999). Morel (2012) joute cette information à d'autres espèces comme *Mucor brunneogrisus*, *Mucor spinosus* et *Mucor lanceolatus*.

Selon Botton et al. (1985), les *Mucor* sp. se reproduisent de deux façons ; une par voie sexuée et l'autre par voie asexuée. La reproduction asexuée s'effectue au moyen de spores immobiles formées généralement en grand nombre dans des sporocystes, pourvus à l'intérieur d'une vécicule centrale ou columelle prolongeant le sporocystophore. Tandis que la reproduction sexuée, homothallique ou hétérothallique, fait intervenir une fusion de deux gamétocystes.

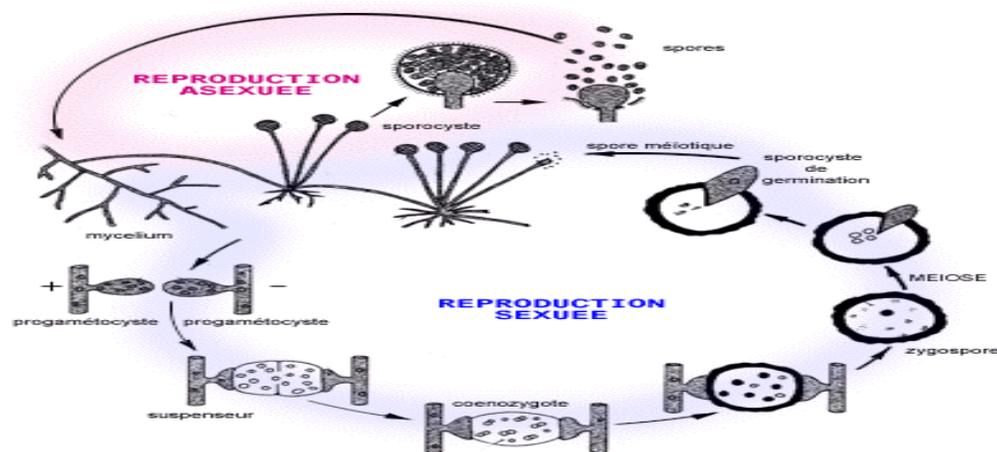


Figure 1. Cycle de reproduction sexuée et asexuée des *Mucor* sp. (J.-C.

Roland et B. Vian - Atlas de Biologie Végétale, 1985, Ed MASSON)

2.1.2 Conditions de croissance des *Mucor* sp.

Le genre *Mucor* contient beaucoup d'espèces chacune de ces espèces ayant une condition de croissance bien déterminée. Tormo et Baral (2004), ont rapporté que, d'une manière générale, les *Mucor* sp. se développent à la température ambiante et au froid (réf. tableau 2). Elles poussent dans une gamme de pH allant de 3,5 à 9 et elles ont également besoin d'une activité de l'eau et d'une humidité relative très élevées (développement rapide sur des fromages jeunes ou mal égouttés et dans des pièces très humides). Une concentration de sel supérieure à 3 % gêne leur croissance.

Tableau 2. Résumé des conditions de croissance nécessaires à *Mucor* sp.

	Température	pH	a _w	HR (%)	Sel (%)
Optimum	20-25 °C	5-6	Sup. 0,95	90-95	Sans ou peu
Maximum	40 °C	?			3
Minimum	Basse (5 °C)	2?	0,9		

Source: Tormo et al.(2004)

Certaines espèces ont des conditions de croissance différentes comme; le *M. racemosus*, a une température de 22 °C, un pH de 4,5, et une absence ou une très faible teneur en sel. Elle est redoutée en fromagerie, car elle est capable d'envahir très rapidement la surface d'un fromage. Ensuite le *M. globosus* a une croissance végétative très rapide. Sa température optimale est de 23 °C et son pH optimal se situe entre 4 et 7,2 (Le Bars-Bailly et al., 1999). L'espèce *M. plumbeus* a besoin une activité de l'eau très élevée pour sa croissance: a_w supérieure ou égale à 0,90 (Halewyn et al., 2002). En effet, plus sensible au bas pH et surtout à l'activité de l'eau que *P. camemberti*, les *Mucoraceae* requièrent une forte humidité relative pour germer, croître et sporuler (Eck et Gillis, 1997).

Tableau 3. Croissance comparée du diamètre des colonies de *Mucor globosus* et des souches de *Penicillium caseicolum*, mesuré en millimètre, en fonction de la température et du temps.

Température	4 °C		13 °C		17 °C		23 °C		29 °C	
espèces	<i>M. g</i>	<i>P. c</i>								
Temps										
22h	0	0	0	0	3	0	7	0	0	0
47	0	0	8	0	13	0.5	24	2	0	0
78	0	0	20	0	30	7	47	9	0	0
6 jrs	0	0	52	12	80	20	90	24	0	0

Source: Brenet et al., 1972

La croissance des *M. globosus* et le *P. caseicolum*, à 4 °C est nulle dans les mêmes intervalles de temps. À 13 °C les résultats indiquent que *M. globosus* est en mesure de croître plus rapidement que *P. caseicolum* se qui se constate dès 47 heures après l'inoculation. À une température de 17 °C, *M. globosus* commence à se développer dans les premières 22h, tandis que *P. caseicolum* ne progresse pas. La comparaison de la croissance entre les deux espèces à cette température montre que *M. globosus* progresse plus rapidement que *P. caseicolum*. La situation est comparable à 23 °C. Mais, à 29 °C, la température est défavorable à la croissance des deux espèces. En définitive, la meilleure façon d'établir une compétition entre *M. globosus* et *P. caseicolum* est, au préalable, d'implanter beaucoup plus de *Penicillium* dans le fromage pour inhiber sa croissance, parce que, dans les mêmes conditions de températures et de temps, cette espèce est plus rapide que *Penicillium caseicolum*.

Tableau 4. Croissance comparée de *Mucor globosus* et des souches de *Penicillium caseicolum* en fonction du pH et du temps

Temps		24h	48h	72h	6 jrs
pH					
	3	M. g	0	5	9
P. c		0	1	5	19
3.5	M. g	4	16	30	75
	P. c	0	2	6	20
4	M. g	6	23	45	*
	P. c	0	2	7	24
5.1	M. g	7	24	47	*
	P. c	0	2	7	24
5.9	M. g	7	27	50	*
	P. c	0	2	8	27
6.8	M. g	9	28	52	*
	P. c	0	3	7	26
7.2	M. g	5	24	43	*
	P. c	0	3	7	25
8.9	M. g	3	21	39	*
	P. c	0	2	6	25

Source: Brenet et al. (1972), * indique que la boîte de 90 mm est entièrement remplie. Les nombres représentent les diamètres moyens des colonies en millimètres.

Les données du tableau 4 sont similaires à celles observées dans le tableau 5. La croissance du *M. globosus* est beaucoup plus rapide que le *P. caseicolum* lorsque ceux-ci sont comparés dans les mêmes conditions de pH et de temps de croissance. Ainsi, peu importe le pH, *M. globosus* croît plus rapidement que *P. caseicolum*.

2.2 Causes d'accidents à *Mucor* sp. dans le fromage

La présence des espèces du genre *Mucor* sp. dans le fromage est le résultat d'un accident, puisque les membres de cette espèce ne font pas partie de la microflore indigène du fromage. Mais, d'après Eck et Gillis (1997), certaines espèces peuvent être considérées comme faisant partie de la microflore fongique normale de certains fromages (tomme de

Savoie, saint-nectaire fermier), elles déprécient par contre la présentation d'autres fromages à pâte pressée. C'est surtout sur les pâtes molles que la contamination à *Mucor* sp. cause le plus de problèmes. Leur contamination peut être endogène et/ou exogène. Arteau et al. (2009) énumère sept principales sources de contamination microbiennes lors de la fabrication du fromage, soit l'air, les sols, les murs, les étagères, les équipements, la saumure/ le sel et lait.

Les causes d'accidents à *Mucor* sp. dans le fromage sont multiples. Et une négligence d'hygiène des locaux, de l'entretien du matériel de fabrication, des surfaces de travail et de l'hygiène du personnel causeront leur développement. Une spore suffit à elle seule à causer un problème de contamination sur le fromage. Ceci est possible puisque la moisissure y trouve un milieu favorable en terme d'éléments nutritifs, en plus des conditions favorables (pH, a_w , HR, T et t) de la cave et du fromage.

La contamination est possible par les mains ou les bottes du personnel qui circule dans les différents locaux. Dans d'autres cas, c'est le matériel qui devient une source de contamination (étagères, claies, stores, ...). Le bain de saumure peut être lui aussi contaminé par les spores des *Mucor* sp. et devenir alors un véritable diffuseur de spores. Une eau contaminée utilisée pour le nettoyage et le rinçage du matériel pourrait également être incriminée lors d'un accident de poil de chat.

2.3 Effets d'accidents à *Mucor* sp. dans le fromage et leurs conditions développement.

L'attaque des *Mucor* sp. se manifeste par l'apparition de poils (3 à 15 mm) et par des odeurs indésirables du fromage. La moisissure se développe au cours de l'affinage donnant un aspect plus ou moins noirâtre et souvent par taches (Tormo et al., 2004).



Figure. 2. Présence du *Mucor* sp. dans un fromage de chèvre avec des thalles longs (poils de chat) (Le Bars-Bailly, 1999)

D'après Eck et Gillis (1997), les accidents du «**poil de chat**» peuvent se présenter sous deux formes:

- une forme bénigne, qui peut durer que quelques jours et n'affecter que quelques fromages sous forme de quelques touffes duveteuses blanchâtres, terminées par de petites boules noires;
- une forme aiguë, généralement soudaine et invasive. La surface des fromages est envahie de touffes drues, plus ou moins blanchâtres au début, mais surtout grisâtres à noirâtres donnant au produit un aspect peu engageant. Il se dégage souvent une odeur plus ou moins prononcée de moisi et des mauvais goûts apparaissent.

Les accidents dus à *Mucor* sp. revêtiront alors un caractère saisonnier, Mahaut et al. (2000), estiment que l'apparition massive a lieu surtout aux périodes humides (automne et hiver) et s'implante préférentiellement sur les pâtes stabilisées, car elles présentent un caractère moins acide. Les mêmes auteurs ont précisé qu'il existe une corrélation positive entre la fréquence de l'accident et le pH au démoulage du fromage (s'il est supérieur à 4,8) et l'hygrométrie des salles de ressuyage (> 85 %) et des hâloirs (> 91 %), et également avec un taux de sel très faible. Une autre étude menée par Le bars-Bailly et al. (1999) indique plutôt que les accidents apparaissent plus particulièrement au printemps ou en automne, c'est-à-dire lorsque l'atmosphère est enrichie en spores par la décomposition des matières végétales. Ces différences s'expliquent en partie par la localisation géographique des observations et les climats qui y sont associés.

Amiot et al. (2010) énumèrent quelques conditions qui sont propices au développement de *Mucor* sp. au cours de l'affinage, soit:

- un fromage trop humide ou pas assez salé;
- une condensation en surface des fromages provenant de l'humidité excessive de la cave;
- un *Penicillium* trop lent à se développer.

Et Tormo et al. (2004) ajoutent:

- un *G. candidum* mal implanté ou peu développé.

Selon la répartition des poils sur le fromage, il est possible d'émettre des hypothèses concernant la source de contamination(Tormo et al., 2004).

1. Un envahissement total et très précoce des fromages est dû à une contamination probable du lait ou du lait emprésuré.
2. Une des faces est plus largement contaminée par rapport à l'autre lorsqu'une contamination probable par l'ambiance des salles de fabrication

Une fois la source identifiée, il est possible de mettre en œuvre des méthodes de lutte et de prévention appropriées à ces accidents.

2.3.1 Les particularités biologiques des *Mucor* sp.

Les particularités biologiques des *Mucor* sp. doivent être caractérisées afin d'identifier les espèces en question et permettre de lutter contre leurs invasions sur les fromages. Botton et al. (1985) indiquent quelques paramètres à discerner:

- ✓ leur température optimale de croissance;
- ✓ leur température létale en fonction du temps d'exposition;
- ✓ leurs facteurs nutritifs essentiels;
- ✓ leur durée de mise en germination des spores;
- ✓ leur vitesse de croissance;
- ✓ leur rapidité et intensité de sporulation;
- ✓ leur résistance aux agents physiques et/ou chimiques.

La durée de germination des *Mucor* sp. est de 8 jours avec une germination maximum après 8-10 jours à 20 °C (Webster et Weber, 2007).

Pour cerner un quelque type de microorganismes les éléments nutritifs sont très importants à connaître. Mouralat et al. (2013) divisent les aliments des microorganismes en:

- **éléments nutritifs**: Le carbone, l'hydrogène, l'oxygène, le phosphore, l'azote, le soufre, le potassium et le magnésium sont nécessaires à des concentrations d'environ 10^{-3} mol/L. Le carbone, combiné à l'hydrogène, l'oxygène et à l'azote est l'élément structural de l'organisme.
- **oligoéléments**, parmi lesquels figurent le fer, le cuivre, le manganèse, le Zinc et le molybdène sont nécessaires à des concentrations de 10^{-6} mol/l et au maximum 10^{-6} mol/l pour le fer et à 10^{-9} mol/l pour le molybdène.
- **vitamines**, telles que la thiamine (B1), biotine (B7), l'inositol ($C_{16}H_{12}O_6$).

Tableau 5. Morphologies comparées des principales espèces de *Mucor* sp.

	<i>M. racemosus</i>	<i>M. plumbeus</i>	<i>M. hiemalis</i>	<i>M. globosus</i>	<i>M. fuscus</i>	<i>M. mucedo</i>
<u>Colonie</u>						
Couleur	Blanc-gris, Brun-jaunâtre	Gris-bleu, Presque noir	Blanc grisâtre, jaunâtre	Brun-grisâtre Feutre	Gris +/- foncé	Blanc-jaunâtre, grisâtre
Hauteur (cm)	0,5-4 (souvent 1)	0,2-1	1-2	1-2		1,5-2
<u>Sporange</u>						
Forme	Globuleux,	Sec. épineux	Hygroscopique, sphérique,	Globuleux,		Hygroscopique, gris (cristaux d'oxalate)
Couleur	hyalin à jaunâtre	gris	jaune à gris brun	gris brun, brun noir	Brun grisâtre foncé	
Dimension (µm)	20-70	85-100	33-50-80	75-120		75-80
<u>Columelle</u>						
Forme	Régulière, ovale ou sphérique,	Épines, ovale ou puriforme,	Paroi lisse, sphérique ou ovale,	Paroi lisse, ovale ou puriforme	Denticulée parfois au sommet,	Sphérique, cylindrique,
Couleur	incolore	brun-jaunâtre	incolore		puriforme	contenu jaune
Dimension(µm)	17-60 x 9-24	36-50 x 17-38	14-45-50	20-40 x 14-32	80-50	72-82-140 x 50-93
<u>Spore</u>						
Forme	Lisses, elliptiques,	Aspérules, rondes,	Lisses, elliptiques,	Lisses, Enfumées,	Aspérulées, globuleuses,	Cylindriques ou elliptiques
Couleur	jaunes claires	brunâtres	incolores	noirâtres	brun grisâtres pâles	
Dimension (µm)	6-10 x 5-8	5 x 8,7	3-8 x 2-6	4-8	8-11	6-15 x 3-8
Zygote	+	(+)	+	+	-	+
Chlamydo spores	Abondantes lisses	+	-	+	Peu abondante	+

Source: (Le bars-Bailly, 1999)

2.3.2 Composition physico-chimique du fromage et les techniques de fabrication

La composition physico-chimique du fromage et les techniques de fabrication sont des éléments très importants, et à connaître, dans le cas d'accidents à *Mucor* sp. Mahaut et al. (2000), décomposent le fromage en des nutriments comme la teneur en protéines du fromage qui varie de 10 à 30 %. Compte tenu de la protéolyse des protéines au cours de l'affinage du fromage, le coefficient de digestibilité s'en trouve amélioré (97 à 98 %) contre 90 % pour le lait. Les fromages constituent d'excellentes sources de calcium et de phosphore. Les vitamines sont en qualité variable. Les vitamines liposolubles (essentiellement A et D) sont apportées par les lipides, alors que les vitamines hydrosolubles (B2, PP, B6, acide pantothénique) sont synthétisées par les microflore bactériennes et fongiques.

Tableau 6. Composition moyenne du fromage pour 100 grammes

		Frais	Pâte molle à croute fleurie	Pâte molle à croute lavée	Pâte pressée non cuite	Pâte pressée cuite	Fondu	Chèvre	Pâte persillée
Eau	(g)	79	50	50	40	35	48	50	40
Énergie	(kcal)	118	310	310	355	375	280	320	378
Glucides	(g)	4	4	4	3	2,5	2,5	1,5	1,8
Lipides	(g)	7,5	24	24	24	28	22	20	32
Protéines	(g)	8,5	20	20	28	29	18	20	21
Calcium	(mg)	100	400	450	700	1050	680	160	620
Phosphore	(mg)	140	250	320	360	620	900	340	420
Magnésium	(mg)	10	20	23	35	50	25	23	25
Potassium	(mg)	130	150	125	100	140	95	300	120
Sodium	(mg)	40	700	970	10	200	1650	1000	1600
Zinc	(mg)	0,5	5	6	10	10	9	1	6
Vit. A	(U.I)	170	1010			1140			1200
Thiamine	(mg)	0,03	0,04			0,01			0,05
Riboflavine	(mg)	0,15	0,75			0,40			0,60
Niacine	(mg)	0,15	0,80			0,10			1,20
Vit. PP	(mg)	0,2	1,25			0,30			1,80
Ac. ascorbique	(mg)	0	0			0			0

Source: Eck et Gillis (1997)

La connaissance des étapes de fabrication d'un produit est un atout pour la prévention des contaminations. La fabrication du fromage peut se résumer en cinq grandes étapes: la coagulation, l'égouttage, le moulage, le salage et l'affinage (Janier 2008)

- **Coagulation**

C'est la prise en gel du lait encore appelé "caillage". Elle peut être obtenue par deux voies différentes ou un mélange des deux (coagulation mixte):

-Par acidification: c'est la coagulation lactique qui correspond à un abaissement du pH du lait par la production d'acide lactique par les bactéries du lait qui déstabilise la micelle de caséine lors de l'atteinte du point isoélectrique des protéines

-Par ajout d'enzymes naturelles ou artificielles (présure de synthèse). Cette coagulation est dite enzymatique ou présure. Elle donne alors un lait caillé non déminéralisé présentant une certaine souplesse, différent de la coagulation par acidification, où il y a déminéralisation. Ce type de coagulation est plus efficace avec un lait de 39-43 °C (Viruéga, 1989).

-Coagulation mixte: c'est la combinaison des deux précédentes. Son but est de diminuer la perte de minéraux par rapport à l'acidification.

- **Égouttage**

C'est la phase où le caillé va être retiré du lactosérum. Les opérations d'égouttage peuvent être multipliées pour l'humidité du fromage (fromage à pâte pressée cuite).

- **Moulage**

Au cours de cette étape, le fromage sera placé dans des moules. Cette opération joue deux rôles, soit de permettre de poursuivre l'égouttage et de donner une forme au fromage.

- **Salage**

Pour Eck (1987), le sel joue un triple rôle:

- Il complète l'égouttage du fromage en favorisant le drainage de la phase aqueuse libre de la pâte;
- il agit soit directement, soit par a_w interposé sur le développement des microorganismes et l'activité des enzymes et, de ce fait, agit sur la phase d'affinage dans son ensemble;
- il apporte son goût caractéristique et a la propriété d'exalter ou masquer la sapidité de certaines substances apparaissant au cours de la maturation du fromage.

Il existe un rapport relatif constant entre la perte d'eau et la prise de sel (Eck, 1997). Ce rapport, qui évolue pendant le salage lui-même, se situe autour de 2,5. Il y a d'autres paramètres qui influencent positivement ce rapport (le pH du fromage, la durée de saumurage, la concentration de la saumure, la température et le rapport surface/volume du fromage).

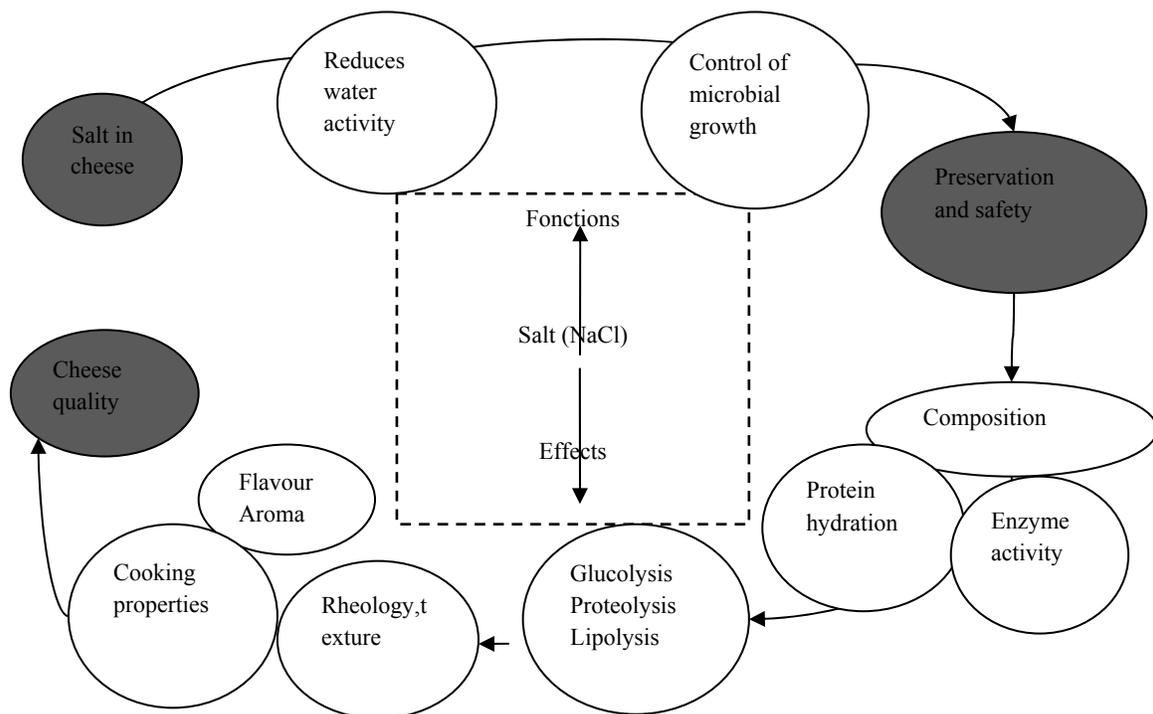


Figure 3. Functions and effects of salt on cheese. The shaded ovals summarise the function and effect of salt in cheese, while the non-shaded ovals indicate how salt contributes to taste (Collectif, 2007).

- **Affinage**

Il s'agit de l'étape de la protéolyse (maturation) résultant de la multiplication de la microflore. C'est la véritable écologie du fromage puisqu'il existe des relations étroites entre les espèces microbiennes et le milieu.

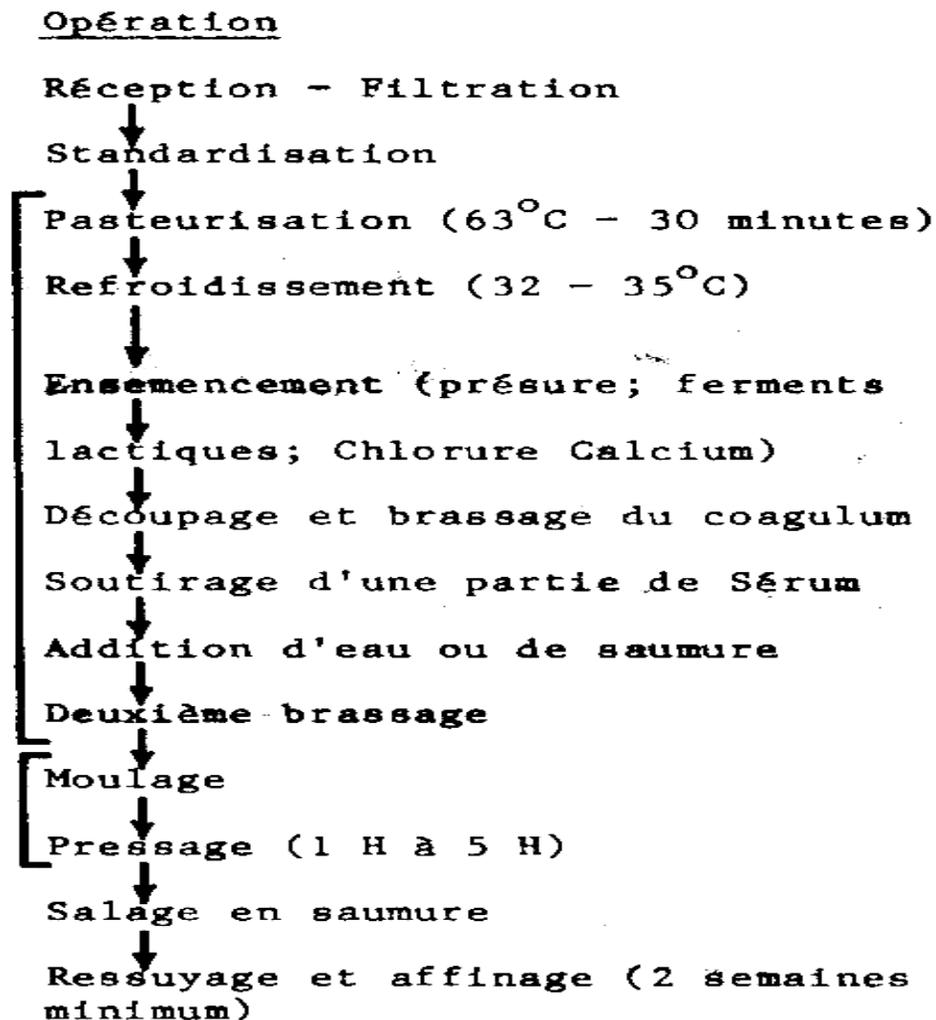


Figure 4.- diagramme de fabrication du fromage (Département de l'Agriculture (FAO, 1988)

Tableau 7. Les différentes familles de fromages et leur description

Famille	Abréviation	Description
Les fromages frais	FF	Aucun affinage, de couleur blanche et de texture molle, ils ont un goût frais, acidulé et léger.
Les fromages à pâte molle et croûte fleurie	PMCF	Leur croûte est blanche et duveteuse, elle peut comporter des traces orangées, selon l'affinage. La pâte est plus ou moins souple au toucher. Goût affirmé.
Les fromages à pâte molle et croûte lavée	PMCL	La croûte est orangée, car ces fromages sont lavés avec de l'eau salée contenant <i>Brevibacterium linens</i> . La solution de soin peut être remplacée par une eau de vie locale. Le goût est prononcé.
Les fromages à pâte persillée	PP Les bleus	Les moisissures se sont développées à l'intérieur de la pâte. Certains sont recouverts d'une feuille de papier aluminium pour éviter la formation de la croûte et contrôler le développement de <i>P. roqueforti</i> .
Les fromages à pâte pressée non cuite	PPNC	Le caillé, après avoir été découpé et brassé, est pressé fortement dans des formes. Goût assez corsé.
Les fromages à pâte pressée non cuite	PPC	Le caillé est chauffé pour augmenter la durée de sa conservation. L'affinage est plus long. Ces fromages ont un goût léger.
Les fromages de chèvre		Aussi appelés à croûte naturelle, ils présentent des aspects différents selon le degré d'affinage. Certains sont recouverts de cendres.
Les fromages fondus		Fromages fondus additionnés de crème et autres produits laitiers.

3 MÉTHODES DE PRÉVENTION ET DE LUTTE

3.1 Méthodologie

La lutte contre les *Mucor* sp. nécessite beaucoup de précautions et d'attention, puisque la connaissance d'une seule méthode ne bloquera pas leur développement ou n'empêchera pas la contamination. Plusieurs stratégies peuvent être envisagées pour prévenir et lutter contre le développement de *Mucor* sp.

3.1.1 Identification des espèces à *Mucor* sp. responsables de l'accident

Botton et al. (1985), estiment qu'un dénombrement "total" des moisissures sans identification ne présente aucun intérêt dans la résolution du problème de contamination. Seule l'identification de l'agent responsable de l'accident peut apporter des informations exploitables. Pour identifier bien caractériser la contamination, il est intéressant de déterminer:

- a. La fréquence des espèces isolées. Une distinction doit être faite entre:
 - les espèces constantes retrouvées dans plus de 80 % des recherches;
 - les espèces fréquentes retrouvées dans 30 à 80 % des analyses;
 - les espèces occasionnelles retrouvées dans 10 à 30 % des relevés,
 - et les espèces accidentelles retrouvées dans moins de 10 % des cas.
- b. L'importance du dénombrement pour chacune des espèces rencontrées.
 - La signification du dénombrement est nécessaire. En effet le dénombrement des thalles peut exprimer l'aptitude à la sporulation ou à la fragmentation du mycélium lors du prélèvement ou d'analyse.

Pour les moisissures comme les *Mucor* sp. l'isolement en stries sur gélose au chloramphénicol est une méthode aussi qui permet de les rechercher, sans toutefois permettre de les dénombrer (Eck, 1997)

3.1.2 Détermination des sources de contamination

La détermination des sources de contamination est un facteur très important pour contrôler les accidents causés par un microorganisme dans un produit. Conséquemment, si la source de contamination est inconnue, la prévention et la lutte sont inévitables et les

accidents se perpétuent sans contrainte. Le premier diagnostic à poser concerne l'identification des causes d'accidents en se basant sur la contamination:

- ✓ de la matière première;
- ✓ des installations de transformation ou de conditionnement.
- ✓ des techniques de fabrication

3.1.2.1 Diagnostic de la matière première (lait)

Dans tout type de produits, plus spécifiquement les produits alimentaires, la qualité de la matière première est une nécessité incontournable. Il est possible qu'une contamination de la matière première soit évidente et conduira à un produit fini contaminé. C'est pour cette raison qu'il est important d'identifier rapidement les causes de sa contamination, et si un diagnostic positif est obtenu, empêcher le développement des microorganismes et plus particulièrement, les *Mucor* sp. Le diagnostic doit se baser sur l'identification des différentes espèces indésirables trouvées qui pourront causer au produit des dommages assez considérables et de mettre sur place un contrôle rigoureux.

L'analyse microbiologique du lait demande un prélèvement d'échantillon représentatif. Les échantillons prélevés doivent par la suite être maintenus dans des conditions qui n'altéreraient pas la qualité intrinsèque du lait. Le volume de l'échantillon prélevé est très variable et doit être représentatif du volume total de l'échantillon à analyser. En général, la quantité se situe entre 50 à 100 mL de lait pour effectuer les analyses microbiologiques (Amiot et al., 2010). Les méthodes d'analyses du lait se répartissent de deux façons:

- Les méthodes d'appréciation de la qualité du lait ;
- Les méthodes de détection des microorganismes pathogènes

Cette présente étude s'intéresse aux méthodes de détections des micro-organismes d'altération, sans pour autant à ne pas négliger les méthodes d'appréciation de la qualité du lait.

Généralement, pour la détection de la microflore d'altération du lait trois types de méthodes sont appliquées: les méthodes de culture, les méthodes immunologiques et les méthodes de biologie moléculaire (Amiot et al., 2010).

Tableau 8. Contamination microbienne du lait par la peau des mamelles

Nombre de microorganismes par mL de lait		
Mamelles lavées		
	Soigneusement	Rapidement
Microflore totale	1400 à 12 000	25 000 à 210 000
Microflore psychrotrophe	140 à 590	500 à 2300
Bactéries coliformes	1 à 10	5 à 10
Mamelles non lavées		
	Propres	Sales
Microflore totale	1400 à 17 000	11 000 à 140 000
Microflore psychrotrophe	-	-
Bactéries coliformes	1 à 40	1 à 250

Source: (Chatelin et al., 1981). Extrait du tableau original

Initialement, les mamelles peuvent être les premières sources de contamination, surtout si elles sont mal lavées ou non lavées. Lorsque les mamelles sont lavées soigneusement, les risques de contamination sont moindres que lorsqu'elles sont lavées plus rapidement ou non lavées. Les mamelles sales portent une microflore totale moindre par rapport à celles qui sont lavées rapidement. De ce fait, au moment de la traite, le nettoyage et la stérilisation du matériel de traite sera bénéfique. Également, le lavage des mamelles et des récipients de stockage du lait ne doivent pas être exclus dans le processus. En effet, une source majeure de contamination des produits alimentaires en voie de transformation est réalisée par les matières premières. Il est toujours souhaitable que la matière première et les denrées alimentaires soient séparées de celles déjà transformées et prêtes à être emballés (Botton et al., 1985).

3.1.2.2 Diagnostic des installations de transformation ou de conditionnement

Pour éviter les accidents des moisissures d'altération, comme les *Mucor* sp., un diagnostic des installations est aussi important. La contamination de l'équipement laitier (outillage

de traite, la tuyauterie et le bassin de réfrigération) augmente la contamination du lait par un facteur de 2 à 50, selon la propreté de la surface (Blais et al., 1984).

Tableau 9. Contamination microbienne du lait par les installations de traite

Ferme	Méthode de nettoyage	Nombre de microorganismes/mL		
		Microflore totale	Microflore psychrotrophe	Bactéries coliformes
1	A froid iodophore	20 000	25 000	1000
2	A froid iodophore	330 000	93 000	33 000
3	Classique (60 °C détergent alcalin)	380 000	3800	17
4	Classique (60 °C détergent alcalin)	250 000	8000	20 000
5	Classique (60 °C détergent alcalin)	1 600 000	11 000	1200

Source: (Chatelin et al., 1981). Extrait du tableau original

Les installations de traite ne sont pas exclues dans le diagnostic, puisqu'elles sont les premières à accueillir le lait qui sort de la mamelle. La méthode de nettoyage qui réduit la microflore totale le plus efficacement est celle du nettoyage à froid en utilisant un iodophore. Ce traitement est plus efficace pour les bactéries coliformes. Les traitements n'éliminent pas la contamination du lait, c'est pourquoi il faut toujours éviter une contamination excessive tout au long de la filière.

Avant toute opération de transformation, la sélection des méthodes de recherche de microorganismes d'altération (*Mucor* sp.) dans le milieu est très évidente (Botton et al. 1985). Les méthodes les plus souvent utilisées pour la recherche des moisissures (*Mucor* sp.) sont les suivantes:

-  **Technique classique d'écouvillonnage:** Cette technique s'applique à tous les types de surface. Elle permet en particulier de dépister " les nids microbiens" pouvant se former dans les coins ou cavités ou encore sur les surfaces bombées. La surface à analyser est balayée à l'aide d'un écouvillon de coton stérile et humide. L'écouvillon est transféré dans une certaine quantité de milieu stérile de

dilution. Après homogénéisation, un volume donné de ce milieu est ensuite transféré en milieu gélose de numération (Botton et al., 1985).

✚ **Technique par rinçage:** Cette technique permet en particulier de contrôler les circuits d'une unité de conditionnement. Elle consiste à introduire dans le système de conditionnement, à la place du produit à conditionner, un liquide de rinçage approprié qui peut être de l'eau dont on aura pris soin au préalable de vérifier la qualité microbiologique. L'analyse sera effectuée en utilisant la technique des membranes filtrantes (Botton et al., 1985).

3.1.2.3 Diagnostic des techniques de fabrication

La standardisation du lait peut influencer le développement de *Mucor* sp., puisque le rapport gras/solides non gras va influencer le développement des *Mucor* sp. En second lieu, la température de pasteurisation doit être bien contrôlée. Également, le sel de chlorure de calcium doit provenir d'un fournisseur garantissant l'absence de contaminants. Finalement, l'acidification doit être bien contrôlée et bien suivie. La nature des ferments ajoutés peut aussi influencer le développement des *Mucor* sp. certaines souches ayant des effets anti-mucor bien documentés. Finalement, le salage est important puisque le sel ne joue pas seulement le rôle de condiment, mais a aussi un rôle au niveau technique. Il faudra aussi en contrôler la qualité et déterminer la quantité nécessaire à mettre dans le fromage.

3.1.3 Analyse de l'air ambiant

L'air ambiant est un facteur très important à prendre en considération, puisque c'est l'un des milieux les plus favorables pour le déplacement des *Mucor* sp. Les risques d'accident sont très évidents. Cela permet d'apporter un regard soutenu sur l'environnement de la salle afin de diminuer ces risques. Pour ce faire, il y a plusieurs méthodes d'analyses qui sont proposées par Botton et al. (1985):

-**Méthodes sedimentométriques:** par ces méthodes, des boîtes de Pétri sont nécessaires. Elles doivent contenir un milieu de culture gélosé adapté à la recherche. Ces boîtes de Pétri sont dispersées à différents endroits dans les salles de transformation, où le produit

est en cours de sa transformation ou de maturation, et exposé à l'atmosphère ambiante. Le temps d'exposition doit être défini pour être représentatif. Après exposition à l'air ambiant, les boîtes de Pétri sont incubées à l'étuve à la température spécifique de germination des *Mucor* sp., ce qui donnera naissance à un thalle.

-Méthodes volumétriques: Ces méthodes permettent de déterminer le nombre de microorganismes par unité de volume d'air. Elles se réalisent par le piégeage de l'air avec une pompe, quant à elle reliée à un débitmètre. Les microorganismes seront piégés soit sur des filtres (gélatine), soit par barbotage dans un diluant stérile, soit directement sur des boîtes de Pétri à l'aide d'appareils spéciaux.

3.1.4 Les mesures d'hygiène

Les mesures d'hygiène sont parmi les premières dispositions à prendre, surtout dans les salles d'affinage où les fromages vont être affinés. Le personnel doit être toujours avisé et sensibilisé faire le nécessaire afin d'éviter les accidents de contamination à *Mucor* sp. Sinon les *Mucor* sp. présents dans le milieu causeront de graves problèmes. Il faut appliquer la bonne pratique d'hygiène (BPH) et la bonne pratique de fabrication (BPF).

Les 7-M sont des facteurs de gestion du risque de la phase de fabrication à ne pas oublier. Joseph (1987) estime que les facteurs à considérer dans chacune de ces phases sont la **main-d'œuvre**, les **matières premières**, le **matériel** (machines, équipements, outillage, fournitures, les **méthodes de travail**, le **milieu** (environnement interne et environnement externe), l'aspect **monétaire** et le **management**. En prenant ces facteurs en charge, on évite les accidents dans le milieu de travail.

3.1.4.1 Mesures d'hygiène des locaux

Un local non assaini est considéré comme un réservoir de contaminants, les spores étant disséminées par les courants d'air, par les humains et/ou les animaux, le matériel de travail, etc. En outre, c'est pour cela qu'il faut bien veiller à ce que le milieu soit bien nettoyé. La stérilisation du milieu peut se réaliser par des produits qui ont une action fongicide importante (hypochlorite, chloramine, crésol, association d'iode et détergents, éthanol et à moindre degré le méthanol et les ammoniums quaternaires (Botton et al., 1985).

Si une source locale d'infection est détectée, la filtration de l'air admis dans la salle peut être envisagée, mais il est rarement possible d'empêcher entièrement l'accès des spores. Une stérilité poussée dans une pièce de dimension importante est difficile à réaliser en raison des mouvements de l'air créés par le matériel et les personnes.

La présence des animaux domestiques, de même que les insectes et les rongeurs, doit être écartée des locaux et des produits traités, car ils peuvent être des porteurs de microorganismes transmissibles aux produits finaux (Botton et al., 1985). L'élimination des insectes et des rongeurs est une tâche exigeante et continue. Blais et al. (1984) mentionnent des règles générales à respecter:

1. Empêcher l'accès des parasites à la bâtisse;
2. Éliminer les refuges et les sources des nourritures;
3. Détruire sans délai tout insecte présent dans l'usine.

À noter que l'extermination doit se faire de façon hebdomadaire par une personne responsable qui aura à surveiller tous les points d'accès et les signes d'infestation. Il faut les éliminer en tendant des pièges, en utilisant des insecticides, solides ou vaporisés.

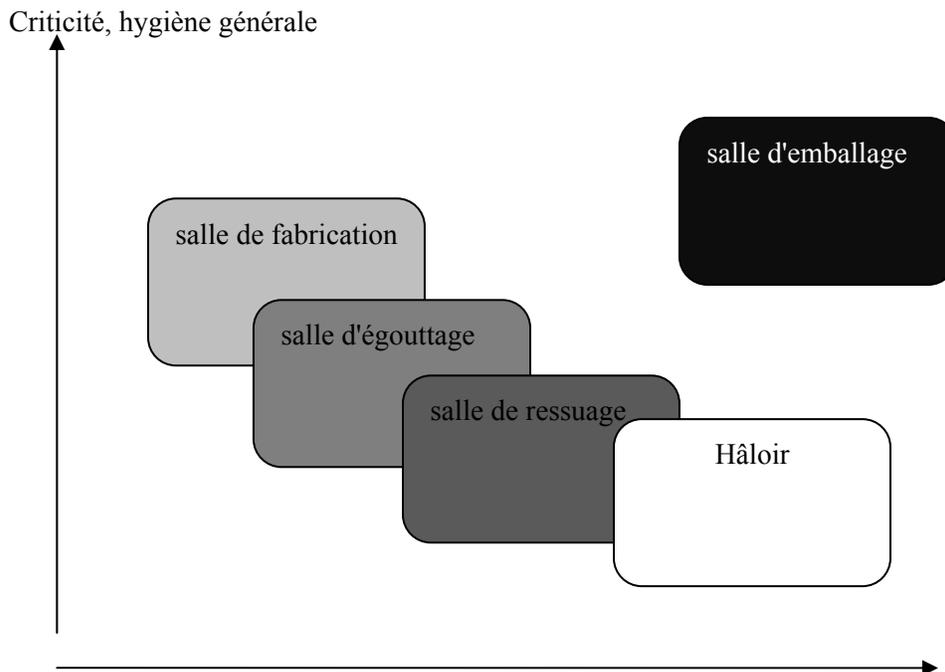


Figure 5. Diagramme de criticité sur l'hygiène générale des locaux (Eck et Gillis, 1997).

À chaque étape de fabrication, il existe des points critiques. Les étapes où le nombre de points critiques est le plus élevé sont: la salle de fabrication, la salle d'égouttage, la salle de ressuage et le hâloir. Eck et Gillis (1997), précisent que la salle de fabrication a des points critiques en matière de contamination de l'ambiance. En effet, la majorité des ateliers fonctionnent en certaines saisons dans des conditions d'humidité et de température voisines des conditions idéales de développement des principaux contaminants. La contamination par le biais des particules présentes dans l'air devient prépondérante. De ce fait, la salle d'égouttage représente un point critique de première importance. Le hâloir reste, un lieu dans lequel le produit entre en contact longtemps avec l'air de la salle. Il s'agit donc d'un point critique important, surtout en ce qui concerne le nettoyage. Et enfin, la salle d'emballage constitue un point critique majeur. Quatre raisons l'explique:

- Une variation de température brutale existe toujours entre le hâloir et la salle d'emballage;

- Dans cette salle, il y a coexistence d'une grande quantité de fromages nus et une non moins grande quantité et diversité d'emballages;
- C'est dans ce service que l'on fait côtoyer le plus grand nombre de personnes avec le produit nu, sans protection particulière le plus souvent;
- la dernière et non la moindre, l'emballage constitue la dernière opération avant la distribution.

Dans les locaux, les planchers doivent être suffisamment en pente pour assurer un drainage rapide et ils doivent être faits d'un matériau lisse, mais non glissant. Les murs doivent être généralement recouverts de céramique permettant de bien les nettoyer. Les plafonds sont souvent négligés, mais il est important qu'ils soient lisses, facilement accessibles et qu'ils soient lavables.

3.1.4.2 Mesures d'hygiène des surfaces de travail

Les surfaces de travail sont le lit du produit, et cela implique un assainissement beaucoup plus poussé dans l'industrie fromagère. En plus, ces surfaces peuvent être contaminées par des germes d'altération avant ou après d'usage. Une motivation assez importante est nécessaire afin de bien nettoyer et de bien assainir les surfaces de travail. Puisque le milieu a servi au préalable à la fabrication, il se peut qu'il y ait des microorganismes qui pourront s'installer pour contaminer les fromages.

Botton et al. (1985) ajoutent qu'il faut expulser l'air à travers les filtres par ventilation, débarrasser des germes, balayer en permanence la zone opérationnelle, sans oublier d'introduire des objets préalablement assainis dans l'enceinte de transformation. La décontamination des surfaces de travail est souvent réalisée par des lampes "germicides" à rayonnement ultraviolet. De plus Tormo et al. (2004), indiquent que les *Mucor* sp. sont très sensibles aux produits chimiques et aux traitements physiques (javel, formol, gaz (NH₄⁺) et au traitement par UV)..

Tableau 10. Spectre d'activité des principales familles de désinfectants

		Moisissures	Bact. Gram +	Bact. Gram -	Virus
Halogène	Chlorés	++	+++	+++	+
	Iodés	+++	+++	+++	+
	Aldéhydes	++	+++	+++	++
	Alcools	+/-	++	++	+/-
	Phénols	++	+++	+/-	+/-
	Tensio-actifs				
	-anioniques	++	+++	+	?
	-cationiques	+/-	+++	+	+/-
	-amphotères	+++	+++	+++	+
	Mercuriels	++	++	+	0
	Biguanides				
	-Chlorhexidines	+	+++	++	0
	-Hexamidines	++	+++	++	0
	Carbanilides	++	+++	++	?

Source: Le Bars-Bally, 1999 extrait de Botton, 1990. ?: efficacité mal connue; 0: efficacité nulle; +/-: efficacité faible; +: efficacité inconstante; ++: bonne activité; +++: très bonne activité

L'action des désinfectants sur les microorganismes, plus spécifiquement les moisissures, est un bon moyen pour lutter contre leur contamination. C'est un moyen d'hygiène qui permet de bien nettoyer les surfaces de travail, sans contrainte. Les halogènes iodés et les tensio-actifs amphotères ont chacun une efficacité comparable sur les moisissures et cette efficacité est jugée très positive. À noter qu'il faut faire très attention aux désinfectants mercuriels, puisque le mercure est un élément toxique. L'utilisation et la dose doivent être bien contrôlées afin d'éviter toute intoxication.

Tableau 11. Caractéristiques des différents résidus alimentaires

Nature du dépôt	Solubilité	Facilité d'enlèvement	Changements provoqués en chauffant une surface sale
Sucres	Solubles dans l'eau	Facile	Caramélisation, plus difficile à nettoyer
Matières grasses	Insoluble dans l'eau- solubles dans l'acide	Difficile	Polymérisation, plus difficile à nettoyer
Protéines	Insolubles dans l'eau- solubles dans l'acide- solubles dans les alcalins	Très difficile	Dénaturation, beaucoup plus difficile à nettoyer
Sels -monovalents -polyvalents	Solubles dans l'acide -solubles dans l'acide Insolubles dans l'eau- solubles dans l'acide	Facile à difficile	Interaction avec les autres composants, devient plus difficile à nettoyer

Source: Blais et al. (1984)

3.1.4.3 Formation et hygiènes du personnel (qualité)

Il est indispensable d'informer, de former et de sensibiliser le personnel sur la qualité microbiologique du produit. Le mot «qualité» doit être répété en tout lieu et en tout temps dans la fromagerie. Dans ce même cadre logique, Eck et Gillis (1997) indiquent un certain nombre de points qu'il faut prendre en compte ; les normes ISO 9000 ont des exigences en terme de qualification du personnel. C'est la raison pour laquelle la qualification du personnel doit être établie sur une formation initiale ou complémentaire, mais également sur l'expérience acquise. De ce fait, l'expérience acquise devra être enregistrée et la formation pourra être également dispensée sous forme d'apprentissage. Le personnel doit être impliqué dans cette démarche commune et doit connaître le vocabulaire de la qualité ainsi que ses concepts et ses principes (Alain et al., 2002).

Des rencontres hebdomadaires avec le personnel pour savoir s'il n'y a pas un problème individuel ou collectif qui pourraient conduire à une contamination du produit peuvent être utiles. Notamment un audit de qualité, qui est un examen méthodique d'une situation relative à un produit, processus, organisation en matière de qualité, qui est réalisé en

coopération avec les intéressés en vue de vérifier la conformité de cette situation aux dispositions préétablies et l'adéquation de ces dernières à l'objectif recherché (Azambre et Audousset, 1992).

L'hygiène du personnel dans une industrie fromagère doit être prise très au sérieux parce que le fromage est exposé à toutes sortes de contaminations microbiennes lors de la moindre négligence. Botton et al. (1985) précisent comment doit se comporter le personnel: l'usage de gants et le port de vêtements réservés au travail tendent à minimiser le nombre de microorganismes. Les ongles doivent être maintenus courts, le lavage des mains doit être fréquent et correctement effectué: brossage énergique au savon et éventuellement immersion dans une solution antiseptique comme les ammoniums quaternaires.

3.1.5 Mesure de contrôle de la fabrication et la traçabilité du produit.

Le contrôle et la traçabilité lors de la fabrication d'un produit, particulièrement le fromage, sont des moyens qu'il faut prendre en main. De ce fait, il y a plusieurs niveaux de contrôles, types de contrôles et méthodes de contrôles qui peuvent se réaliser au cours de la fabrication pour éviter toute contamination (Pierre, 1985).

a) Niveaux de contrôle

-Contrôles d'entrées de matières premières et autres intrants et extrants susceptibles de participer à la fabrication du produit.

-Contrôles en cours de fabrication du produit: en autocontrôle (par les opérateurs eux-mêmes) et intermédiaires (par des contrôleurs ou l'encadrement).

-Contrôles finaux: par des contrôleurs de l'entreprise, en présence du client et par des organismes extérieurs.

b) Types de contrôles

- sensitifs (généralement visuel)
- de laboratoire (interne ou externe à l'entreprise)
- au gabarit (sur montage de fabrication, d'essais ou de contrôle)

- aux instruments de mesure (état de surface, humidité et pH)

c) Méthodes de contrôle

Ces méthodes peuvent être:

- Unitaire = tri
- Par prélèvement: arbitraire et statistique par lot ou en continu.

Selon la norme ISO 8402 datant de 1994, "*La traçabilité est l'aptitude à retrouver l'historique, l'utilisation ou la localisation d'une entité au moyen d'identifications enregistrées*".

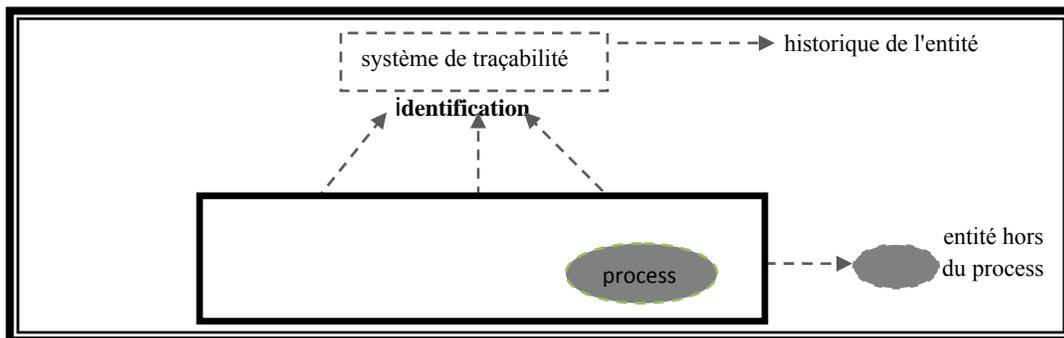


Figure 6. Système de traçabilité de fonctionnement dans un processus de fabrication de produits (Viruéga, 2005)

Le système de traçabilité permet une identification précise à chaque étape. À la suite d'un accident, l'historicité permet d'identifier à quelle étape l'accident s'est produit. Ce sont essentiellement quatre domaines qui offrent des services de traçabilité: l'assurance qualité, l'informatique, la métrologie et la gestion de la chaîne logistique (Viruéga, 2005).

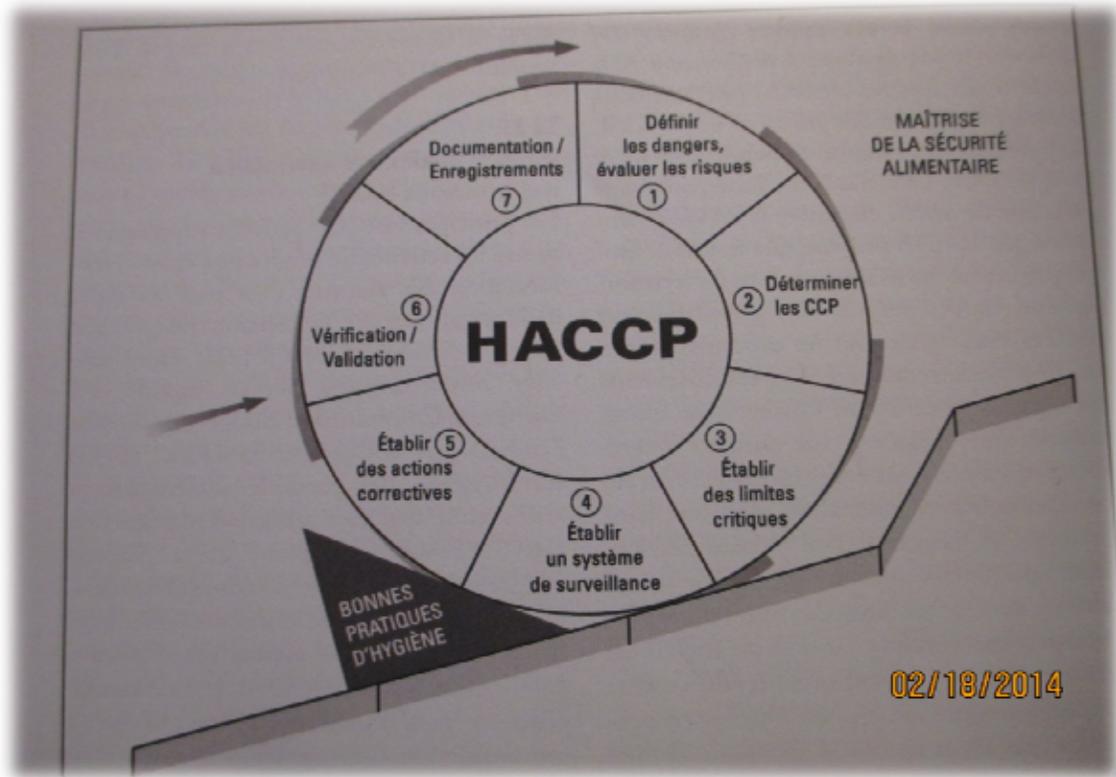


Figure 7. Bonnes pratiques d'hygiène et HACCP (*Hazard Analysis Critical Control Point*) (extrait; Amiot et al., 2010).

Conformément aux exigences réglementaires, le HACCP vise à :

- ✓ identifier tout danger de nature biologique, physique ou chimique, que pourrait représenter un produit alimentaire lors de sa consommation;
- ✓ identifier les différents stades du procédé de fabrication d'un produit alimentaire qui sont associés à l'apparition de ces dangers;
- ✓ définir les moyens nécessaires à la maîtrise de ces dangers;
- ✓ s'assurer que ces moyens sont effectivement mis en œuvre et sont efficaces.

C'est un système d'analyse et de contrôle des dangers alimentaires mis au point à la fin des années 1960. Avec ce système dans une industrie fromagère, l'hygiène et la qualité du produit seront améliorées.

3.1.6 Techniques physico-chimiques

Pour prévenir le développement des *Mucor* sp. dans le fromage, les moyens physiques sont très favorables. Pour se faire, il y a des méthodes qui peuvent réduire le nombre de *Mucor* sp.

3.1.6.1 Diminution de la pression osmotique du fromage par le sel.

Le sel joue deux rôles majeurs dans le fromage. Premièrement, il contribue directement au goût et à la qualité du produit et, deuxièmement, a un rôle d'agent de conservation ralentissant le développement de la microflore d'altération. Le sel permet la réduction de l'activité de l'eau dans le fromage. La concentration du NaCl dans les fromages humides est un déterminant majeur des jeunes fromages et l'activité de l'eau est $\approx 1 - 0,00565$ [NaCl], ou [NaCl] est la concentration du NaCl en g/100 g de fromage à l'humidité (Collectif, 2007).

Les *Mucor* sp. sont très sensibles au sel. Mais, cette sensibilité dépend de la température et de pH du fromage. Leur tolérance se limite à une concentration de 3 %. Cela implique que l'augmentation de la concentration en sel inhibe leur développement. Des concentrations en sel de 20 à 25 % sont généralement suffisantes pour inhiber leur croissance (Botton et al., 1985). Eck et al. (1987), indiquent que les fromages présentent, pour la plupart, des teneurs en sel de l'ordre de 1 à 2 %, quoique certains fromages orientaux ont des teneurs beaucoup plus élevées, soit de 8 à 15 %. La croissance du *M. mucedo* est inversement proportionnelle à la quantité de sel et proportionnelle à l'augmentation de l'activité de l'eau.

Tableau 12. Résistance à la saumure de certains microorganismes

Température: 20 °C Acidité: 15 °D pH: 4,9 Densité: 1,180 Chlorures: 26 %

Jours / espèces	<i>Mucor</i> / mL	<i>P. candidum</i> / mL	<i>P. glaucum</i> / mL
1	7 000	230 000	10 000
2	4 000	270 000	13 000
3	3 000	217 000	9 000
4	3 000	164 000	8 000
5	2 000	74 000	8 000
8	2 000	72 000	9 000

Source: Blais et al. (1984), l'extraction de trois espèces dans le tableau original

Le constat est que parmi tous les microorganismes présents, dans les mêmes conditions, les *Mucor* sp. résistent moins dans la saumure. La persistance de *Mucor* sp. dans la saumure fait en sorte que cette dernière peut agir comme source de contamination des fromages.

3.1.6.2 Modification de la température de la cave de l'affinage

La température est un facteur influençant le développement des microorganismes. Il s'agit d'un facteur essentiel pour lutter contre leur développement aussi. Il est nécessaire de bien étudier le facteur de température sans pour autant inhiber le développement de la microflore utile du fromage au cours de l'affinage.

Tableau 13. Représentation des températures d'affinage de différents fromages

Catégories de fromages	°C
Pâtes molles fleuries	11-13
Pâtes molles lavées	10-15
Pâtes persillées	5-10
Pâtes pressées non cuites	10-14
Pâtes pressées cuites	
Première phase (en cave froide)	10-12
Deuxième phase (en cave chaude)	20-22

Source: Eck et al., 1987

Les températures d'affinage correspondent à la température de croissance des *Mucor* sp. qui peuvent se développer à merveille en cas d'accident. Puisque ce paramètre permet le développement, une diminution de la température de la cave peut ralentir leur croissance.

3.1.6.3 Modification du pH

Majoritairement, le pH des fromages se situe entre 4,9-5,9 (Botton et al., 1985). À ces niveaux de pH, les *Mucor* sp. peuvent envahir le fromage rapidement. Mais, en ajustant le pH par une acidification importante (acide, bactéries lactiques) leur développement sera moindre. Cette condition d'acidité est importante si l'on considère que les protéases agissent à des pH variant de 5,5 à 7,5 et les lipases à des niveaux de pH variant de 7,5 à 9.0 (Blais, 1984).

3.1.7 Les compétiteurs de *Mucor* sp.

Pour diminuer la croissance rapide des *Mucor* sp., il y a des agents compétiteurs qui peuvent empêcher son développement, sans pour autant altérer le fromage.

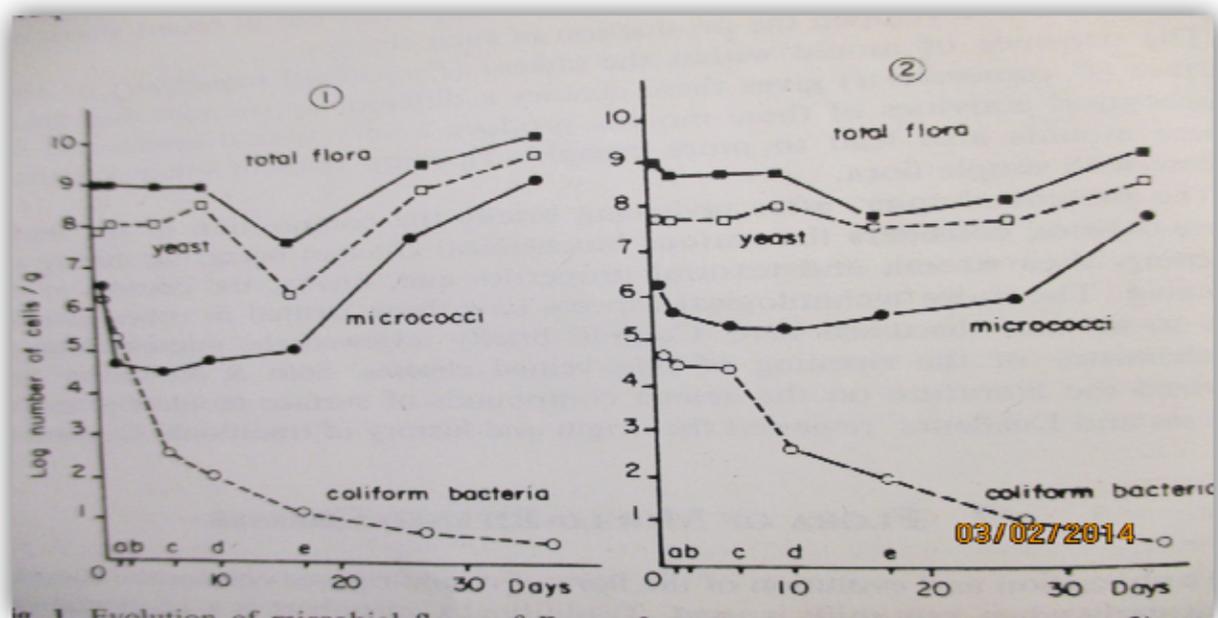


Figure 8. Evolution of microbial flora of Roquefort cheese (surface: 1; centre: 2). a: 21h after rennet; b: in warm room (18 °C); in cold room (10 °C); d: before salting; e: after salting (from Devoyod and Bret) (Abd El-Salam et al., 1993).

3.1.7.1 Ferments d'affinage

Au niveau de l'affinage du fromage, la microflore renferme un grand nombre de microorganismes (de 2 à 3×10^9 bactéries par gramme) d'origines variées: le lait, les levains, les sels ou les saumures, le matériel de fromagerie et autres (Eck et Gillis, 1997).

3.1.7.1.1 La microflore bactérienne

3.1.7.1.1.1 Les bactéries lactiques

La température optimale de développement des bactéries lactiques est comprise entre 10 et 45 °C. Une teneur en concentration de NaCl de 2,4 à 6,6 % permet leur développement. La plupart d'entre elles sont aérotolérantes, certaines sont anaérobies strictes.

- ✓ **Les Lactocoques:** développent rapidement au début de l'affinage, c'est la microflore dominante de la plupart des fromages ($> 10^9$ par gramme). Les espèces les plus rencontrées sont: *Lc. lactis* subsp. *lactis*, *Lc. lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, *Lc. lactis* subsp. *cremosis*.
- ✓ **Les Streptocoques thermophiles:** ce sont des levains utilisés le plus souvent dans les fromages à pâte cuite et à pâte molle stabilisée. L'espèce la plus fréquente est le *S. thermophilus*.
- ✓ **Les Leuconostoc:** leur nombre dans le fromage est variable (10^3 à 10^9 par gramme). Les espèces rencontrées sont: *Ln. lactis*, *Ln. cremoris*, *Ln. dextramicum* et *Ln. lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*.
- ✓ **Les Lactobacilles:** ils sont abondants dans les pâtes pressées cuites, leur nombre pouvant atteindre 10^7 à 10^9 bactéries par gramme. Les espèces les plus fréquentes sont: *Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii* subsp. *lactis*, *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lb. plantarum* et *Lb. casei*.
- ✓ **Les autres bactéries lactiques (Entérocoques et Pédiocoques):** Les espèces rencontrées sont: *E. faecium*, *E. faecalis*, *E. faecalis* subsp. *liquifaciens*, *P. pentosaceus* et *P. acidilatici*.

3.1.7.1.1.2 Les bactéries propioniques

Ces bactéries se développent en cave chaude, au coeur de la pâte, leur nombre pouvant atteindre 10^8 à 10^9 par gramme. Les espèces les plus rencontrées sont: *P. freudenreichii* subsp. *freudenreichii* et subsp. *shermanii*, *P. jensenii*, *P. thoenii* et *P. acidi propionici*.

Ces microorganismes sont mésophiles, leur optimum de température de croissance se trouve entre 25 à 30 °C, il n'y a pas de croissance à 7 °C. Le pH optimum de croissance est de 6,5-7. A pH 5 ou inférieur, il n'y a pas de développement. Elles peuvent se développer en présence de 6,5 % de NaCl, toutefois à un pH 5,2 une teneur en sel de 3 % ralentit leur croissance (Eck et al., 1987).

3.1.7.1.1.3 Les bactéries de surface

-Les Micrococcaceae

Les espèces (Staphylocoques et Microcoques) les plus souvent rencontrées dans différents types de fromage sont: *S. aureus*, *S. epidemis*, *S. saprophylicus*, *S. cohnii*, *S. capitis*, *S. hominis*, *S. lentus*, *S. xylosus* et *M. varians*, *M. luteus* et *M. roseus*.

Eck et Gillis (1997), ont mentionné que ce sont des germes aérobies et mésophiles pouvant se développer à un pH variant de 6-8,5, soit proche de la neutralité. Elles ont une croissance optimale de température de 25 à 37 °C, elles ont aussi capables de se multiplier à 10 °C, mais non à 45 °C. Elles présentent une résistance assez élevée au sel, elles peuvent se développer en présence de 15 % de NaCl. C'est un compétiteur idéal pour le *Mucor* sp.

-Les bactéries corynéformes

Les espèces rencontrées dans le fromage sont: *Brevibacterium ammoniagenes*, *B. linens*, *Corynebacterium flavesens*, *A. nicotianae*, *C. polymorphus*, *C. variabilis*, *Microbacterium lacticum* et *A. liquefaciens*.

Leur température optimale de croissance est de 25 à 30 °C, mais elles sont capables de se multiplier à 10 °C et les bactéries d'origine laitière peuvent se développer à 37 °C. La tolérance au sel est variable. Certaines espèces sont capables de croître en présence de 12 % de sel. Une concentration de 4 % NaCl a un effet bénéfique sur la croissance de *B. linens*, une espèce isolée du fromage et au pH inférieur à 6,5.

3.1.7.1.2 La microflore levure

Les levures représentent une microflore très importante dans certaines variétés de fromages. Voici quelques espèces rencontrées: *K. lactis*, *C. sphearica*, *K. maxiamus*, *C.*

kefyr, Deb. hansenii, C. famata, Sacch. cerevisiae, C. robusta, Zygosacch. rouxii, P. membranaefaciens, P. fermentans, P. kluyveri, H. anomala, G. capitatum, Y. lipolytica, C. lipolytica, C. catenulata, C. intermedia, C. rugosa, Tr. capitatum, T. debrueckii, C. colliculosa, T. inconspicua et Rhodotorula.

Eck et Gillis (1997) mentionnent que la température optimale de développement de cette microflore se situe entre 25 °C (22 à 30 °C), la température minimale est voisine de 4 °C (0 à 12 °C), la température maximale est de 35-37 °C (33-42 °C). Un petit nombre d'entre elles (5 %) supporte un traitement de 63 °C pendant 30 min. Elles tolèrent des concentrations de sel élevées, jusqu'à 12-15 %, des concentrations de 5 à 6 % inhibent totalement la croissance. Elles ont un caractère acidotrophe, l'optimum de croissance est au voisinage de pH 6,0 et elles admettent de grandes variations (pH 3 à 10). L'appauvrissement de l'atmosphère en oxygène n'entraîne pas pour autant une diminution de croissance. Une atmosphère de 1 à 3 % d'oxygène avec ou sans CO₂. Le taux de CO₂ requis pour réprimer la croissance dépend de la teneur en oxygène, il est de 3 % en présence de 21% d'oxygène (Eck et al., 1987).

Les espèces les plus importantes sont la levure *Geotrichum candidum* et la moisissure *Penicillium camemberti* puisqu'elles peuvent agir comme compétiteur de *Mucor* sp. *Geotrichum candidum* est une levure dimorphique qui se présente sous trois formes (Lebas et al., 2004):

1. Aspect levuriforme, de couleur crème, hyphes sporulant, donnant peu de mycélium, température optimale se situant entre 22-25 °C, croissance réduite à 30 °C, se développant en surface, plutôt acidifiant faiblement protéolytique;
2. Aspect feutrant, couleur blanche, duveteux, peu sporulant, mycélium, température optimale 25-30 °C, produisant plus de biomasse, plus alcalinisant, faiblement protéolytique;
3. Morphologie intermédiaire, certaines souches d'apparence laineuse rappellent les variétés de poils courts de *Penicillium camemberti*, moisissure présente sur le camembert.

G. candidum est également en mesure de cataboliser le lactate et ainsi d'avoir une action alcalinisante dans le fromage.

Tableau 14. Les paramètres de croissance du *Geotrichum candidum*

Paramètres de croissance	Comportement des <i>Geotrichum</i>
Température	Température optimale comprise entre 22-30 °C Croissance nulle à 4 °C Croissance plus ou moins rapide à 12 °C selon les souches
pH	Optimum 5,3-8, inhibition importante à pH <4,6
NaCl	Optimum entre 0,5 et 1 % Croissance ralentie à + ou - 1,5 % de sel
Humidité	Hygrométrie minimale 90 %
Aération	Strictement aérobie
Vitesse de croissance	Très variable selon les souches Apparition: 30h à 20 °C, 72h à 14 °C, 5 jour à 12 °C

source: Lebas et al. (2004)

3.1.7.1.3 La microflore fongique, les *Penicillium*

La microflore fongique occupe une place très importante. Les espèces les plus rencontrées sont: *Penicillium* sp., *Mucor* sp. Mais parmi toutes ces espèces, les *Penicillium* sp. occupent la plus grande place, deux espèces étant utilisées fréquemment comme ferment d'affinage ; *P. camemberti* et *P. roqueforti* (Eck et Gillis, 1997). La surface des fromages affinés en surface est recouverte par une microflore complexe de moisissures dont les genres les plus rencontrés sont *Penicillium*, *Mucor*, *Cladosporium*, *Epicoccum* et *Sporotrichum* (Abd El-Salam et al. 1993).

Eck et Gillis, (1997) précisent que le *P. camemberti* a une faible croissance, il forme une colonie de 25 à 35 mm sur milieu à l'extrait de malt en deux semaine à 25 °C comparativement aux autres espèces. Sa croissance est plus importante et plus rapide en début de culture que les variétés blanches. Le temps nécessaire à l'apparition d'une teinte

verte pâle est très variable, de 4 à 14 jours à 22 °C et un pH de 6,5. La sensibilité au sel est assez faible. Le seuil d'inhibition se situe à une concentration de 20 %. Pour le *P. roqueforti* sa vitesse de croissance est plus rapide; en une semaine à 25 °C, il forme des colonies de 40 à 70 mm de diamètre. Sa température optimale se situe entre 35-40 °C et le pH optimum de croissance est 4, mais elle tolère de grandes variations variant de 3 à 10,5. De faibles teneurs en sel avec des taux de 6 à 8 % de NaCl entraînent un retard de développement (Eck et Gillis, 1997) et le seuil limite de tolérance serait supérieur à 20 %.

Pour éviter le développement des *Mucor* sp. dans le fromage certaines souches de *Penicillium* sp. ont montré des propriétés anti-*Mucor* et peuvent être inoculées dans le fromage. Une augmentation de la dose de *P. camemberti* peut également être envisagée.

3.1.8 Traitement du fromage

Le fromage peut subir des traitements afin d'éviter le développement de certains microorganismes d'altération. Pour éviter les défauts du fromage, il y a certains soins adaptés à la spécificité de chaque variété de produits. Le retournement des fromages a un but très important dans le traitement du fromage. Eck et Gillis (1997) indiquent que la finalité des retournements est de régulariser le développement des microflore utiles ou au contraire de réduire les risques de développement de la microflore indésirable. Si le fromage reste en une seule position, l'eau va migrer vers le bas se qui conduira une activité de l'eau importante et qui va entraîner le développement des *Mucor* sp. Ensuite, il est bon de faire le lavage (eau salée avec des germes utiles) ou du frottage (Huilage superficiel) de la surface du fromage à croûte lavée, car ils régularisent le développement des colonies microbiennes et la production enzymatique. Ensuite, en début de l'affinage on recouvre les fromages avec des films de natures variées (cires, paraffines, pellicules plastiques, vernis). On peut aussi appliquer des substances à activité antimicrobienne par trempage ou pulvérisation de solutions aqueuses ou par inclusion dans des cires, vernis ou paraffines.

4 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

4.1 Conclusion

Les méthodes de prévention des accidents de contamination à *Mucor* sp. dans le fromage demandent un regard soigneux vu la complexité d'une situation de contamination. Cette contamination peut aboutir à des pertes très significatives. En connaissant la morphologie des *Mucor* sp., les espèces spécifiquement contaminantes et les caractéristiques de leur développement, plusieurs pistes de solution du problème peuvent être proposées.

D'après nos recherches bibliographiques, s'il y a une contamination dans le produit, il faut tout d'abord chercher les sources de cette contamination ; soit au niveau de la matière première elle-même, soit au niveau des installations de fabrication et de conditionnement. Ce sont les trois premiers diagnostics à faire. Il est également possible que l'accident provienne du personnel, qui ne doit pas être négligé dans les démarches. Avant tout, la répartition des poils de chat sur le fromage peut donner une idée de la source de la contamination ; s'ils se répartissent sur tout le fromage ou s'ils se répartissent sur l'une des deux surfaces. L'application des principes de traçabilité et du système HACCP sont aussi des outils permettant de contrôler les contaminations. Compte tenu de la complexité physiologique des *Mucor* sp. et de leur très grande capacité d'adaptation, il paraît impossible de définir une méthode générale de prévention. C'est un ensemble de facteurs qui peuvent entraîner ces accidents; c'est donc un ensemble de moyens qu'il faudra mettre en œuvre pour les éviter (Le Bars-Bally, 1999)

Les *Mucor* sp. ne représentent pas à eux seuls le plus grand danger du fromage, il y a aussi d'autres microorganismes qui sont de loin beaucoup plus dangereux et même mortels par la libération des toxines. C'est pour cette raison qu'il faut penser au général pour arriver au particulier.

Finalement, il faut souligner qu'il existe des espèces de *Mucor* sp. qui sont très utiles dans l'industrie de la fermentation en fabricant des alcools de grains (riz...) et de tubercules (pomme de terre...). Elles sont aussi utilisées dans les industries d'acides aminés (*M. glutamicus*...), d'acides lactiques (*Rhizopus oryzae*), de présure (*M. miehei*), des vitamines A (*Blakeslea trispora*), dans la bioconversion des stéroïdes et dans

l'affinage de certains fromages (*M. fuscus* lors de la fabrication du Cantal) (Bouchet et al., 1999).

4.2 Recommandations

- ❖ Retirer les fromages contaminés dans le lot et ne pas les laver ni les broser dans la salle ou dans un endroit proche de la fromagerie. Ils doivent être tous détruits si la contamination de surface est trop importante, sinon les moisissures peuvent être retirées de la surface manuellement;
- ❖ Couvrir les bacs des caillés et les fromages à la fin du moulage;
- ❖ Nettoyer et assainir les salles après les opérations de fabrication du fromage;
- ❖ Éviter de demander de l'aide au personnel de traite pour la fabrication du fromage;
- ❖ Le matériel et les vêtements de travail du personnel doivent être bien propres avant tout usage;
- ❖ Le port des vêtements spécifiques par le personnel est indispensable;
- ❖ Information et formation du personnel sur le terme qualité;
- ❖ Éviter d'utiliser des produits de nettoyage non recommandés;
- ❖ Distancier les fromages lors de l'affinage afin de favoriser la circulation de l'air autour des meules;
- ❖ Ne pas mélanger les lots et la livraison doit se faire des plus anciens vers les nouveaux.

5 RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. ABD EL-SALAM, M.H. et al. Cheese: chemistry, physics and microbiology. Second édition, Cork, P.F. Fox, 1993, 555 pages.
2. ALAIN, Barreau et al. La qualité. Démarche, méthodes et outils. Paris, Lavoisier, 2002, 313 pages.
3. AMIOT, Jean et al. Science et technologie du lait. Transformation du lait. Québec, Presses internationales polytechnique, 2010, 600 page.
4. AZAMBRE, Jacques et AUDOUSSET, Jean-Georges. Maitriser une conception de qualité. Paris, MASSON, no75280, 1992, 129 pages.
5. BARRAL, Julie. La congélation du caillé: le point sur les modalités techniques et règlementaires.[document électronique]. Carmejane, Agricultures et territoire chambre de l'agriculture Languedoc Roussillon OIER SUAMME, 2013, http://www.aude.chambagri.fr/fileadmin/Pub/CA11/Internet_CA11/Documents_internet_CA11/elevage/reglementation/La_cong%C3%A9lation_du_caill%C3%A9_V_03_01_2013.pdf
6. BLAIS, Alexandre et al. Science et technologie du lait. Principe et application Québec, La fondation de technologie laitière du Québec, Inc., département de science et technologie des aliments Université Laval. 1984, 527 pages.
7. BOTTON, B. et al. Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. Paris, MASSON, no75280 1985, 364 pages.
8. BRENET, M. J. L. Centeleghe, J. B. Milliere, J. P. Ramet et F. Webert. Étude d'un accident en fromagerie de type «Camembert» causé par des mucorales [document électronique]. Nancy, Laboratoire de Technologie, École Supérieure de Laiterie de Nancy 1972, <http://hal.archives-ouvertes.fr/docs/00/92/85/79/PDF/hal-00928579.pdf>
9. COLLECTIF. Cheese problems solved. Cork, P.L.H McSweeney, 2007, 402 pages.
10. COLLECTIF. Les fromages. conseil des denrées alimentaires du Québec. Québec, 1988, 126 page.
11. Département de l'Agriculture, Archive de documents de la FAO. La transformation laitière au niveau villageois [en ligne]. 1988,

- <http://www.fao.org/docrep/003/x6934f/x6934f00.htm> [page consultée le 03/05/2014].
12. ECK, André et GILLIS, Jean-Claude. Le fromage. Le fromage de la science à l'assurance-qualité. 3^e édition, Paris, TEC et DOC, no150, 1997, 889 pages.
 13. ECK, André. Le fromage. 2^e édition, Paris, Technique et documentation, no16536, 1987, 539 pages.
 14. ÉVETTE, Jean-Luc la fromagerie. Paris, Presse Universitaires de France. 1989. 137 pages.
 15. GRENON, Claude et al. Le lait de qualité [document électronique]. Québec, centre de référence en Agriculture et Agroalimentaire du Québec, 2004, http://www.agrireseau.qc.ca/bovinslaitiers/documents/Grenon_Claude.pdf
 16. JANIER, Christian. Le fromage. Lyon, Stéphane Barches, no8807, 2008, 190 pages.
 17. JOSEPH, Kédala. La gestion intégrale de la qualité. Deuxième édition, Montréal, Quafec, 1987, 190 pages.
 18. KONTE, M. Le lait et les produits laitiers .Développement de systèmes de production Intensive en Afrique de l'ouest [document électronique]. Dakar, 1999 http://www.interreseaux.org/IMG/pdf_LE_LAIT_ET_LES_PRODUIITS_LAITIERS.pdf,
 19. LE BARS-BALLY, S. et al. «Accidents de fabrication dus aux moisissures en fromager», SYNTHÈSE SCIENTIFIQUE [en ligne]. 1999, http://mycotoxicologie.free.fr/publications/Fromages_RMV_1999.pdf, (page consultes le 03 Mars 2014).
 20. LEBAS et al. guide d'appuis technique pour l'accident de fromagerie à la ferme «Défaut du à l'oïdium» technologie lactique [Document électronique].http://www.accident_fromagerie.fr/IMG/pdf/Guide_Oidium.pdf
 21. MAHAUT, Michel et al. Initiation à la technologie fromagère, Paris, TEC et DOC, no0408 (VI), 2000 194 pages.
 22. MOLIMARD, P et al. Suivi de croissance de *Penicillium camemberti* et *Geotrichum candidum* en culture pure et en association au cours de l'affinage de fromages expérimentaux à pâte molle de type camembert [document

- électronique]. <http://hal.archives-ouvertes.fr/docs/00/92/94/15/PDF/hal-00929415.pdf>
23. MOREL, Guillaume. La levure *Geotrichum candidum*: taxonomie, biodiversité et génome.[document électronique]. Paris, 2012, AgroParisTech INRA UMR1319 http://hal.archivesouvertes.fr/docs/00/82/86/66/PDF/VA2_MOREL_Guillaume_20122012_-_VA2.pdf
 24. PIERRE, Vandeville. Gestion et contrôle de la qualité. Montreuil, GRAFIC PLUS, 1985, 233 pages.
 25. Reproduction sexuée et reproduction asexuée [image en ligne] <https://www.google.ca/search?q=cycle+de+reproduction+du+Mucor+sp> (consultée le 20 Février 2014)
 26. ROLAND, J.-C. et VIAN, B. Atlas de Biologie Végétale, Ed MASSON [en ligne]. 1985, http://biosol.free.fr/liens/myco_2005/myco%205.htm [page consultée le 02/05/2014].
 27. TORMO, Hélène et al. Guide d'appui technique pour l'accident de fromagerie à la ferme «le poil de Chat ou mucor». Technologie laitière [document électronique]. Lyon, fédération des éleveurs de chèvre (FNEC), institut de l'élevage et Centre fromager de carmejane, septembre 2004, http://www.accident-fromagerie.fr/IMG/pdf/Guide_Mucor.pdf
 28. VIRUÉGA, Jean-Luc Traçabilité. Outils, méthodes et pratiques. Paris, Éditions d'organisation, no75240, 2005, 235 pages.
 29. WEBSTER, John et ROLAND, Weber. Introduction to Fungi. Third Edition. Cambridge, Cambridge University Press, 2007, 817 page.
 30. WIKIPEDIA, selon le catalogue of life. *Mucor* (liste des espèces)[en ligne]. <http://fr.wikipedia.org/wiki/Mucor> [page consultée le 26 /02/2014]
 31. CHATELIN, Y.M. et al. Étude de quelques cas de contaminations microbiennes importantes du lait à la ferme [en ligne]. 1981, <http://hal.archives-ouvertes.fr/docs/00/92/88/80/PDF/hal-00928880.pdf>. [consultée le 04/05/2104]