

## Qualité bactériologique des fromages frais marocains

Hamama A.

*in*

Tisserand J.-L. (ed.).  
Le lait dans la région méditerranéenne

Paris : CIHEAM

Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 6

1989

pages 223-227

Article available on line / Article disponible en ligne à l'adresse :

<http://om.ciheam.org/article.php?IDPDF=CI000486>

To cite this article / Pour citer cet article

Hamama A. **Qualité bactériologique des fromages frais marocains**. In : Tisserand J.-L. (ed.). *Le lait dans la région méditerranéenne*. Paris : CIHEAM, 1989. p. 223-227 (Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens; n. 6)



<http://www.ciheam.org/>  
<http://om.ciheam.org/>

# Qualité bactériologique des fromages frais marocains

A. HAMAMA

INSTITUT AGRONOMIQUE ET VÉTÉRIINAIRE «HASSAN II»  
BP 6202 RABAT-AGDAL (MAROC)

**RESUME** - Trente échantillons de fromage frais traditionnel marocain fabriqués à partir du lait cru et collectés dans 6 laiteries traditionnelles de la ville de Rabat ont été examinés pour leur qualité bactériologique. Le pH moyen de ces échantillons est de 4,2 et l'acidité lactique moyenne est de 0,99%. La charge microbienne aérobie totale est en moyenne de  $2,5 \times 10^8$  UFC/g. La flore de contamination fécale ou d'origine fécale (coliformes totaux fécaux, et streptocoques fécaux) est importante et se situe entre  $10^4$  et  $10^6$  UFC/g. en moyenne. L'examen de certaines souches d'*Escherichia coli* isolées du fromage pour leur capacité de produire des entérotoxines du type LT (Thermo-labiles) s'est révélé négatif. *Salmonella* est par contre présente dans trois échantillons (10%). La contamination moyenne du fromage frais par *Staphylococcus aureus* est de l'ordre de  $6,9 \times 10^4$  UFC/g. Cependant une proportion de 10% des échantillons examinés par le test de la thermonucléase (TNase) est TNase positive indiquant la probable présence d'entérotoxines staphylococciques dans ces échantillons. En effet, l'entérotoxine staphylococcique du type C est détectée dans deux échantillons du fromage à des taux de 0,4 et 0,8  $\mu\text{g}/100$  g. du produit respectivement.

**Mots-clés:** Fromage, bactériologie, qualité, bovins.

**ABSTRACT** - «Bacteriological quality of fresh moroccan cheeses». Thirty samples of soft fresh traditional moroccan cheeses made from fresh milk and collected at three milk farms in the city of Rabat were examined for bacteriological quality. Average pH of samples was 4.2, and average lactic acidity of 0.99%. Total aerobic microbial load was of  $2.5 \times 10^8$  UFC/g. Fecal contaminating flora or fecal origine flora (total fecal coli sp. or fecal streptococci) is high, around  $10^4$  and  $10^6$  as average. The analysis of certain strains of *Escherichia coli* isolated from cheese because of their ability to produce enterotoxins of LT type (thermo-labile) proved negative. *Salmonella* on the contrary was present in three samples (10%). Average contamination of soft cheese by *Staphylococcus aureus* is about  $6.9 \times 10^4$  UFC/g. However, a proportion of 10% of the samples analyzed by the thermonucléase (TNase) test were TNase positive, indicating the possible presence of staphylococci enterotoxins in these samples. In fact, the staphylococci enterotoxin type C was detected in two of the cheese samples at a ratio of 0.4 and 0.8  $\mu\text{g}/100$  g. of product respectively.

**Key words:** Cheese, bacteriology, quality, cattle.

## Introduction

Le fromage produit au Maroc provient aussi bien des unités industrielles fromagères à capacité de production relativement élevée que de petites unités fermières produisant essentiellement du fromage frais. Les principales unités industrielles de production du fromage sont SIALIM (Tanger) dont la capacité est de 6000 tonnes/an produisant essentiellement du fromage fondu pour tartine, SOFRAM (Casablanca) dont la capacité est de 2000 tonnes/an produisant différentes variétés de fromage affiné (Cammembert, Gruyère, Emmenthal, etc), CL-ML (Casablanca) produisant du fromage pour tartine, Fermes Laitières du Saiss-Chergui-(Fès) produisant certaines variétés de fromage affiné, et la fromagerie Crema (Benslimane) produisant du fromage frais. En plus de ces unités industrielles, il existe un grand secteur de producteurs fermiers qui fabriquent du fromage frais de vache, de chèvre ou de brebis soit pour l'autoconsommation ou pour la vente dans les cités urbaines avoisinantes.

La production nationale de fromage à partir d'unités industrielles est de 3391 tonnes en 1982 et de 4546 tonnes

en 1983. La production des petites unités fermières quoique non comprise dans le calcul de la production totale, représente néanmoins une part importante de la consommation nationale en fromage.

La production nationale n'étant pas suffisante, le Maroc importe une quantité importante de pâtes de fromage particulièrement des pays de la CEE comme matière première pour la fabrication industrielle du fromage (900 à 1.200 tonnes/an). Le pays importe aussi des fromages de consommation, 25 tonnes en 1986 et 23 tonnes en 1987. Les importations fromagères représentent entre 2 et 4% des importations totales en produits laitiers.

La consommation du fromage au Maroc est estimée à 1,92 équivalent litre de lait par tête et par an en 1984-85. Dans le milieu urbain, cette consommation est plus importante (3.68 eq. litre de lait) que dans le milieu rural (seulement 0.64 eq. litre de lait). Cette consommation a doublé en l'espace de 14 ans puisqu'elle n'était que de 0,96 équivalent litre de lait par an et par tête d'habitant en 1970-71.

Au Maroc, une proportion estimée à 20-30% du lait produit est utilisée par les laiteries urbaines traditionnelles dans la préparation de différents produits laitiers dont le «jben» ou fromage frais traditionnel. Ce produit est fabriqué à partir d'un lait cru qui a subi une fermentation lactique spontanée survenant souvent dans les deux ou trois jours suivant la traite du lait. Cependant certains fabricants de fromage frais destiné à une commercialisation plus élargie utilisent une coagulation présurée du lait qui peut être obtenue dans les quelques heures qui suivent la traite. Dans les deux cas, la coagulation du lait est suivie d'un égouttage spontané du caillé qui est réalisé à température ambiante (15 à 30° C) pendant une période de un à plusieurs jours. Le caillé égoutté est ensuite coupé selon la forme désirée, conditionné dans un emballage en papier et puis livré au commerce ou gardé pour l'autoconsommation.

## Objectif

L'étude de la qualité bactériologique du fromage frais revêt une importance considérable en raison de l'utilisation du lait cru dans sa fabrication. Toute flore microbienne pathogène présente initialement dans le lait ou contractée pendant la manipulation du lait au cours de la préparation du fromage, est en mesure de se développer et atteindre des taux dangereux pour le consommateur durant les premières étapes de la fermentation. La présence d'une flore pathogène importante et/ou les substances toxiques de son métabolisme, dans le fromage doit donc être évitée. Cette prévention passe d'abord par la connaissance des caractéristiques du produit considéré, de la qualité de la matière première utilisée et de la technologie de fabrication de ce produit.

L'objectif de la présente étude est donc d'évaluer la qualité bactériologique du fromage frais traditionnel marocain obtenu de six laiteries traditionnelles de la ville de Rabat. Les échantillons analysés ont été aussi examinés pour la présence de certains microorganismes pathogènes tels que *Salmonella* et *Staphylococcus aureus* et ses enterotoxines.

## Matériel et méthodes

### Echantillonnage

Dans chacune des 6 laiteries urbaines traditionnelles considérées dans cette étude, 5 échantillons de fromage frais de vache ont été prélevés à des intervalles de temps différents pour un nombre total d'échantillons de 30.

### pH et Acidité titrable

Les pH des échantillons est déterminé à l'aide d'un pH mètre (E-520 Metrohm Herizan, Suisse). L'acidité titrable est mesurée selon les méthodes standards préconisées par l'Association Américaine de Santé Publique (APHA, 1985).

### Détection de la thermonuclease (TNase)

La recherche de la TNase est effectuée dans 30 g de fromage frais broyé dans 40 ml d'eau distillée. Le pH du produit est ramené à 4,5 lorsque c'est nécessaire avec une solution de HCL 3N. Le broyat est centrifugé pendant 20 min. à 10.000 rpm à l'aide d'une centrifugeuse à réfrigération de type RC-2 Sorvall (Dupont Instruments, USA).

Le surnageant est ensuite porté à ébullition pendant 60 min. Après refroidissement, l'extrait est testé pour la présence de la TNase dans le milieu gélosé à DNA et au bleu de toluidine. Ce milieu est préparé selon la description de Kamman et Tatini (1977).

### Détection de l'enterotoxine staphylococcique

Les échantillons trouvés positifs pour le test de la TNase sont examinés pour la présence éventuelle d'entérotoxines staphylococciques.

L'extraction de l'enterotoxine est réalisée selon la méthode préconisée par Bergdoll et Bennet (1984). Les extraits sont ensuite examinés par double immuno-diffusion sur gel (Casman et al., 1969).

Les enterotoxines de référence et leur antisera sont obtenus de R. W. Bennett (FDA, Washington, D. C.) et de Toxin Technology Inc. (Madison, Wisconsin, USA).

## Dénombrements microbiens

### FLORE AEROBIE TOTALE

Le dénombrement de cette flore est effectué sur une gélose pour numération (Plate Count Agar). L'ensemencement en masse des différentes dilutions de l'échantillon est suivi d'une incubation des boîtes ensemencées pendant 48 H. à 32° C. (Messer et al., 1985).

### FLORE DE CONTAMINATION FÉCALE

Le dénombrement des enterocoques est effectué sur le milieu KF streptococcus Agar incubé pendant 48 H. à 35° C.

Les coliformes sont dénombrés sur le milieu gélosé lactosé bilé au cristal violet et au rouge neutre (VRBL). L'incubation est conduite pendant 24 H. à 35° C. pour les coliformes totaux et à 44° C. pour les coliformes fécaux.

Pour déterminer la proportion de *E. coli* parmi les coliformes fécaux, 2 à 3 colonies sont prélevées du milieu VRBL et sont examinées pour leurs caractéristiques morphologiques sur le milieu gélosé à l'éosine et au bleu de

méthylène et leurs réactions aux tests de l'indole, Voges-Prauskaueer (VP), rouge de méthyle et de citrate.

Sur les 23 souches de *E. coli* isolées du fromage frais, 12 souches sont testées pour leur capacité de production de l'enterotoxine thermo-labile (LT) à l'aide du test d'agglutination passive reversé sur latex (VET-RPLA Test Kit, Oxoid Ltd. Hampshire, Angleterre). Les instructions du fabricant pour la préparation de la culture d'*E. coli* et du test de l'entérotoxine sont suivies. La lecture des réactions d'agglutination sont lues après 24 H. d'incubation à température ambiante.

## DÉTECTION DE SALMONELLA

Pour cette détection, l'eau péptonée tamponnée est utilisée comme milieu de préenrichissement et les bouillons au tétrathionate et au sélénite comme milieu d'enrichissement selon le méthode de référence de la Fédération Internationale de Laiterie (1980). A partir des milieux d'enrichissement, des cultures sont prélevées etensemencées sur la gélose au Vert Brillant et la gélose Hektoen. L'incubation est de 24 H à 35° C.

Les colonies typiques de salmonella sur ces 2 milieux sont isolées pour une confirmation biochimique et sérologique de leur identité.

## STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Le dénombrement de *S. aureus* est effectué sur le milieu de Baird-Parker Agar. Les boîtes inoculées sont incubées à 35° C. pendant 48 H. L'appartenance des colonies noîrâtres sur ce milieu à *S. aureus* est vérifiée par les tests de la coagulase et de la thermonucléase (TNase).

Le biotype des souches de *S. aureus* isolées du fromage frais est déterminé selon la procédure de Devriese (1984). Selon leurs réactions aux tests de la staphylokinase, B-hémolysine, cristal violet et de la coagulation du plasma bovin, les souches sont classées en différents biotypes (humain, bovin, ovin ou non spécifique).

Le phage-type des souches isolées est déterminé en utilisant le test international de 23 phages humains et 16 phages bovins obtenus du Laboratoire de référence des staphylocoques (Public Health Laboratory, Colindale, Londres, Angleterre). La dilution du test de routine est utilisée dans cette lysotypie en conformité avec les recommandations de la sous-commission internationale de lysotypie des staphylocoques (1975).

Les souches de *S. aureus* isolées sont testées aussi pour leur capacité à produire des entérotoxines staphylococciques. Le gélose semi-solide de Casman et al. (1963) est utilisée dans la production d'enterotoxine et le test de double immuno-diffusion dans la détection des entérotoxines produites.

## Résultats et Discussion

Les résultats sur la qualité microbiologique du fromage frais sont montrés dans le Tableau 1. Les échantillons du fromage frais examinés ont un pH moyen de 4,2 et une acidité titrable moyenne 0,99% d'acide lactique. Ces valeurs élevées d'acidité témoignent d'une fermentation lactique importante de ce produit. La flore microbienne aérobie totale est pour cette raison considérable dans ce produit puisqu'elle a une valeur moyenne de  $2,5 \times 10^8$  UFC/g. de produit.

La flore de contamination fécale ou d'origine fécale est importante dans le fromage frais. Le taux des coliformes est en moyenne de  $2,0 \times 10^5$ /g. pour les coliformes totaux et de  $9,0 \times 10^4$ /g pour les coliformes fécaux alors que le taux moyen des entérocoques est de  $5,3 \times 10^5$ /g. Cependant, la qualité bactériologique du fromage frais traditionnel fabriqué à partir du lait cru ne peut être valablement évaluée par la dénombrement des flores de contamination fécale en raison du caractère fermentaire de ce produit.

Le nombre important des microorganismes de contamination fécale peut être la conséquence d'une multiplication rapide et massive de la flore fécale initialement présente dans le lait cru utilisé dans la préparation du fromage. Une contamination supplémentaire du fromage par cette flore peut survenir durant les différentes étapes de sa fabrication, vues les conditions souvent inhygiéniques dans lesquelles la préparation du fromage est conduite.

Parmi les coliformes fécaux, *E. coli* représente une proportion de 52%. Aucune des souches examinées parmi les *E. coli* isolés ne produit l'entérotoxine thermolabile (LT). Cependant, il n'est pas exclu que certaines souches de cette espèce puissent être en mesure de produire l'entérotoxine thermostable (ST) ou d'être du type entéropathogène. Les autres tests d'entéropathogénicité n'étant pas conduits, il n'est pas donc possible de spéculer sur les conséquences éventuelles de la présence d'une flore importante de *E. coli* sur la santé publique et la salubrité du produit.

Parmi les 30 échantillons du fromage frais examinés, trois (10%) contiennent Salmonella. La présence de ce pathogène dans le fromage frais a une signification hygiénique très importante étant donné que toute salmonelle est considérée comme potentiellement pathogène pour l'homme. La contamination du fromage frais par Salmonella est dû probablement à l'utilisation d'un lait cru contenant cet agent pathogène. En moyenne, 22% des échantillons du lait cru examinés dans une étude antérieure contenaient cet agent pathogène. La contamination du fromage frais par Salmonella peut aussi avoir lieu au cours de sa préparation particulièrement à partir des manipulateurs ou de la vaisselle laitière préalablement contaminée.

Une proportion de 73% des échantillons du fromage frais examinés contiennent *Staphylococcus aureus* (Tableau 2). Le taux moyen de *S. aureus* dans ce produit est de  $7,0 \times 10^4$ /g. Quoiqu'un seul échantillon présente une population

**Tableau 1**  
**QUALITÉ MICROBIOLOGIQUE DU FROMAGE FRAIS MAROCAIN**  
(Valeurs moyennes)

Nombre d'échantillons	pH	Acidité lactique %	Flore Aérobie Totale (1 x 10 <sup>6</sup> /g.)	Coliformes		Entérocoques (1 x 10 <sup>3</sup> /g)	<i>S. aureus</i> (1 x 10 <sup>3</sup> /g.)	Salmonella dans 25 g.	
				Totaux	Fécaux (1 x 10 <sup>3</sup> /g.)			Nombre	(%)
30	4,2	0,99	250	200	90	530	70	3	(10)

**Tableau 2**  
**INCIDENCE DES CONTAMINATIONS STAPHYLOCOCCIQUES DANS LE FROMAGE FRAIS MAROCAIN**

Nombre d'échantillons	Nombre et (%) d'échantillons positifs		
	<i>S. aureus</i>	Thermonuclase	Entérotoxines Staphylococciques
30	22 (73)	3 (10)	2 (6,6)

**Tableau 3**  
**PRODUCTION D'ENTÉROTOXINES ET ORIGINE DES SOUCHES DE *S. AUREUS* ISOLEES DU FROMAGE FRAIS**

Nombre de souches	Nombre de souches toxigènes (%)	Nombre et (%) des souches d'origine		
		Bovine	Humaine	Non spécifique
56	16 (29)	40 (71)	12 (22)	4 (7)

de *S. aureus* supérieure à un million de germes/g, trois échantillons de fromage ont un test de thermonuclase (TNase) qui est positif. Généralement, un test de TNase positif signifie que le produit contient ou a contenu à un certain moment durant ou après sa fabrication, une population de *S. aureus* supérieure à un million/g. Il est donc très probable que l'acidité importante du fromage frais en fin de fermentation a réduit le nombre de *S. aureus* initialement important durant les premières étapes de la fermentation. Comme l'indique le test de la TNase, les trois échantillons à TNase positive sont potentiellement entérotoxigènes.

Pour vérifier cette possibilité, ces trois échantillons sont examinés pour la présence d'entérotoxines staphylococciques. En effet, deux des 3 échantillons se sont révélés contenir l'entérotoxine du type C (SEC). Les taux de SEC trouvés dans les deux échantillons sont respectivement de 0,4 et 0,8 µg/100 g. de produit. Il est généralement admis que des taux avoisinants ou supérieurs à 1 µg d'entérotoxine peuvent engendrer chez le consommateur adulte des troubles de toxi-infection staphylococcique. Chez les jeunes ou les individus souffrant de maladies concurrentes, des taux comparables à ceux trouvés dans ces deux échantillons peuvent causer la toxi-infection. Il est donc nécessaire d'éviter une contamination importante par *S. aureus* du lait

cru servant à la fabrication du fromage frais. Toute contamination importante par des souches entérotoxigènes de *S. aureus* du lait cru entraînerait une multiplication rapide de ces germes durant la fermentation et la production d'entérotoxine.

Pour vérifier l'origine des souches de *S. aureus* isolées des échantillons du fromage à TNase positive, ces souches sont testées pour leur biotype ainsi que pour leur entérotoxigénicité. Environ 71% des souches testées sont d'origine bovine indiquant la prépondérance des contaminations provenant du lait cru utilisé (Tableau 3). La plupart de ces souches sont soit affectées par les phages du groupe IV soit sont non lysotypables. La proportion des souches entérotoxigènes parmi les souches isolées est de 29%. Les entérotoxines produites sont surtout du type C.

Les résultats présentés dans cette étude montrent la grande importance de l'utilisation d'un lait cru de très bonne qualité microbiologique dans la fabrication du fromage frais. Pour cela, il est nécessaire d'appliquer une bonne hygiène de traite et une réfrigération rapide et adéquate du lait après sa production jusqu'à son utilisation. Il est évident qu'il faudrait aussi éviter toute contamination du lait au cours de la préparation du fromage frais soit par les manipulateurs ou par le matériel et équipement laitier utilisés.

## Bibliographie

A.P.H.A. (1985): «Chemical and physical methods», pp. 327-404. In G. H. Richardson (ed), *Standard Methods for the Examination of Dairy Products*, 15th ed. Amer. Pub. Hlth. Assoc., Washington, D. C.

CASMAN, E. P., and BENNET, R. W. (1963): «Culture Medium for the production of staphylococcal enterotoxin», *J. Bacteriol*, 86, pp. 18-23.

CASMAN, E. P.; BENNET, R. W.; DORSEY, A. E., and STONE, J. E. (1969): «The microslide gel double diffusion test for the detection and assay of staphylococcal enterotoxins», *Hth. Lab. Sci.* 6, pp. 185-196.

DEVRIESE, L. A. (1984): «A simplified system for biotyping *Staphylococcus aureus* strains isolated from different animal species». *J. Appl. Bacteriol.* 56, pp. 215-220.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON SYSTEMATIC BACTERIOLOGY. Subcommittee on phage typing of staphylococci. (1975). *Int. J. Syst. Bact.* 29, pp. 642-646.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. (1980). «Milk and milk products Detection of Salmonella». *IDF Standard 93: 1980*, International Dairy Federation, Brussels, Belgium.

KAMMAN, J. F., and TATINI, S. R. (1977): «Optimal conditions for assay of staphylococcal nuclease», *J. Food Sci.* 42, pp. 421-424.