

UNIVERSITE DE NANTES
FACULTE DE PHARMACIE

ANNEE 2006

N°39

THESE
pour le
DIPLÔME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE
par
Mlle Emmanuelle ROUX

Présentée et soutenue publiquement le 28 juin 2006

SECURITE SANITAIRE LIEE A LA
CONSOMMATION DE FROMAGE

Président : M. Alain REYNAUD, Professeur de Bactériologie
Membres du jury : Mme Nathalie CAROFF, Maître de Conférence en Bactériologie
M. Christophe OLIVIER, Maître de Conférence en Toxicologie
Mme Catherine PERVIER, Docteur en Pharmacie

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	3
-------------------	---

PARTIE I : DU LAIT AU FROMAGE : LES GRANDES ETAPES DE FABRICATION	5
--	----------

A- GÉNÉRALITÉS : LE LAIT	6
1°) <i>Sécrétion</i>	6
2°) <i>Constituants</i>	6
3°) <i>Composition microbiologique</i>	7
3-1- Bactéries.....	9
3-2- Levures.....	11
3-3- Moisissures.....	11
B- LES GRANDES ÉTAPES DE PRODUCTION	10
1°) <i>Préparation des laits de fromagerie</i>	10
1-1- Standardisation physico-chimique.....	13
1-2- Standardisation biologique.....	14
2°) <i>La coagulation</i>	17
2-1- La coagulation par acidification.....	17
2-2- La coagulation par voie enzymatique.....	18
2-3- Les coagulums	19
3°) <i>Egouttage</i>	20
4°) <i>Salage</i>	22
5°) <i>Affinage</i>	23
5-1- Mise en œuvre.....	23
5-2- Le travail de la flore au cours de l'affinage.....	24
6°) <i>Techniques comparées</i>	27
6-1- Les pâtes fraîches.....	27
6-2- Les pâtes molles.....	28
6-3- Les pâtes pressées	29
6-4- Les pâtes fermes cuites	30
6-5- Les pâtes fermes non cuites	31
6-6- Les fromages de chèvre	31

PARTIE II : LES RISQUES MICROBIOLOGIQUES LIES A LA CONSOMMATION DE FROMAGE	33
--	-----------

A- PRINCIPAUX MICROORGANISMES IMPLIQUÉS	35
1°) <i>Listeria monocytogenes</i>	35
1-1- L'agent pathogène responsable	35
1-2- La listériose.....	36
1-3- Contamination.....	37
2°) <i>Les salmonelles</i>	43
2-1- L'agent pathogène.....	43
2-2- Symptomatologie.....	44
2-3- Contamination.....	44
3°) <i>Escherichia coli entéropathogène</i>	47
3-1- L'agent pathogène.....	47
3-2- Tableau clinique.....	47
3-3- Mode de contamination.....	48
4°) <i>Les staphylocoques coagulase positive</i>	51
4-1- L'agent pathogène.....	51
4-2- Tableau clinique.....	51
4-3- Modes de contamination	52
5°) <i>La brucellose</i>	53
5-1- L'agent pathogène responsable	53

INTRODUCTION

Depuis plusieurs siècles, les fromages français ont une réputation de qualité, comme en témoignent les données de production actuelles. Sur une production mondiale de 14,2 millions de tonnes, l'Europe représente un tiers du total avec 5,7 millions de tonnes fabriquées. La France, pays leader, produit 1 million de tonnes **(77, 78)**. Sur le territoire, 300 à 400 espèces de fromages sont dénombrées, chacune caractérise une région et un savoir-faire.



Figure 1 : La France des Fromages

La moitié de la production française est exportée. Cette performance s'explique par l'intérêt croissant, à l'échelle mondiale, pour nos fromages nationaux. Les pays d'Asie, notamment le Japon, du Proche-Orient et d'Amérique latine sont plus particulièrement friands de fromages.

Les Français restent tout de même les premiers consommateurs de fromages au monde (en moyenne 24 kg par habitant par an) **(62)**. Cela représente le premier poste de dépense en produits laitiers du budget alimentaire des ménages français. Soucieux de leurs traditions gastronomiques, les Français sont attachés à l'authenticité de ce produit du terroir. Toutefois, ils expriment également une demande maximale de sécurité alimentaire afin d'être protégés de tout risque d'intoxication d'origine alimentaire **(79)**.

Ainsi, pour répondre à ces exigences essentielles, la chaîne de production fromagère doit mettre en place un système d'assurance qualité efficace. De plus, tout doit être maintenant réfléchi, dans le cadre de plus en plus strict de la législation européenne.

La qualité de la production fromagère repose essentiellement sur le contrôle des microorganismes en constante évolution tout au long des étapes de fabrication. Prendre connaissance des conditions de croissance de ces microorganismes et des risques qu'ils impliquent pour le consommateur, est capital pour mettre en place des mesures de prévention efficace.

Partie I

DU LAIT AU FROMAGE :

LES GRANDES ETAPES

DE FABRICATION

A- Généralités : le Lait

1°) Sécrétion (33)

Le lait est sécrété dans la glande mammaire par des cellules épithéliales qui tapissent des acini, reliés par des sinus galactophores ; permettant l'acheminement du lait dans la citerne de la mamelle. Les cellules épithéliales se développent au cours de la gestation et leur activité est contrôlée par des hormones peptidiques et stéroïdiennes qui s'expriment dès la mise-bas. La plupart des constituants (lactose, lipides, caséines, β -lactoglobuline, α -lactalbumine) du lait sont synthétisés dans la mamelle à partir de précurseurs d'origine sanguine, provenant eux-mêmes de la bioconversion d'éléments constitutifs de l'aliment (cellulose, amidon, lipides).

2°) Constituants (33)

- Lipides : Les triglycérides représentent plus de 97% des lipides, pour une faible part de diglycérides, phospholipides et substances insaponifiables. On trouve de nombreux composés mineurs dont les rôles nutritionnels et organoleptiques peuvent être très importants : stérols, vitamines liposolubles, dérivés caroténoïdes... Plus de 150 acides gras ont été identifiés et ce sont principalement des acides gras saturés. Les proportions relatives de ces acides gras dépendent de l'alimentation et varient d'une espèce à l'autre.

- Les matières azotées : on sépare les caséines des autres protéines solubles. Les caséines sont au nombre de 4 (β , κ , γ , α_{S1} et α_{S2}). On distingue la caséine κ qui a la propriété de former avec les autres caséines des complexes stables en présence de calcium : les micelles. Les autres protéines sont représentées principalement par la β -lactoglobuline et l' α -lactalbumine. Elles ne sont pas coagulées par les enzymes coagulantes. Il existe aussi des matières azotées non protéiques comme l'urée, des bases organiques, des peptides ou des acides aminés.

- Les constituants inorganiques : c'est l'ensemble des constituants présents à l'état d'ions ou de sels non dissociés. Les composants majeurs sont le calcium, le potassium, le phosphore, le magnésium, le sodium, le citrate et les chlorures.
- le lactose : c'est le constituant le plus abondant du lait. Il joue un rôle important, notamment lié à sa valeur nutritionnelle et à sa fermentescibilité par de nombreuses bactéries.
- les vitamines : un litre de lait couvre pratiquement la totalité des besoins journaliers d'un être humain en 5 vitamines : A, B₁, B₂, B₉ et B₁₂.
- les enzymes : elles sont présentes en très grand nombre. Parmi celles présentant un intérêt particulier, on peut citer la lactoperoxydase, la catalase, la phosphatase alcaline, la lipase ou la protéine lipase, la protéase alcaline ou plasmine.

3°) Composition microbiologique (57)

Le lait d'un animal parfaitement sain et traité aseptiquement, est normalement dépourvu de microorganismes. A la sortie de la mamelle, le nombre de germes est très faible et généralement inférieur à 5000/ml. Ces germes proviennent de l'extérieur et pénètrent dans la mamelle par le canal du trayon. En cas d'infection de la mamelle, le nombre de germes augmente peu (sauf dans le cas de mammites cliniques), mais ceux-ci sont en majorité constitués de bactéries pathogènes, notamment staphylocoques ou streptocoques. Ainsi, bactéries, virus, levures et moisissures peuvent être présents dans le lait. Les bactéries ont une place prédominante dans l'ensemble des problèmes microbiologiques des produits laitiers, les levures et les moisissures intéressant surtout la fromagerie.

3-1- Bactéries

En raison de la grande diversité des bactéries présentes dans le lait, et en se basant sur un certain nombre de propriétés importantes qu'elles ont en commun, on les divise en deux catégories: les bactéries saprophytes et les bactéries pathogènes.

☞ *Les bactéries saprophytes* peuvent avoir un intérêt technologique ou hygiénique.

Les bactéries lactiques (genre *Lactobacillus*) ont une grande importance en laiterie. Leur principale propriété est de produire de l'acide lactique par fermentation du lactose. Certaines produisent en outre du gaz carbonique et divers composés, qui peuvent contribuer à l'arôme des produits laitiers. Par la production d'enzymes protéolytiques, ces bactéries participent à l'affinage des fromages. La flore acidifiante du lait n'est pas uniquement constituée de bactéries lactiques. Des Bifidobactéries et des Entérobactéries interviennent aussi dans l'acidification.

D'autres bactéries sont presque toujours présentes dans le lait cru, et jouent un rôle capital en laiterie. D'un point de vue technologique, certaines assurent la fermentation du lactose, produisant, outre des acides, des gaz (hydrogène et gaz carbonique) qui font gonfler les fromages. D'autres élaborent diverses substances conférant aux produits des goûts et des odeurs désagréables.

☞ *Les bactéries pathogènes*. Le lait cru et les produits laitiers au lait cru peuvent contenir des germes pathogènes pour l'homme : staphylocoques, entérobactéries, colibacilles...

Le nombre de germes vivants est une donnée capitale. L'efficacité de leur destruction par la chaleur (pasteurisation) dépend en partie de leur concentration initiale. Si l'on considère que la destruction est de 99 %, la contamination résiduelle peut être négligeable ou, au contraire, importante. Outre leur capacité à se multiplier et à se répandre dans l'organisme, certains germes pathogènes produisent des toxines. Souvent thermostables, elles restent actives après certains traitements thermiques tels que la pasteurisation. Ces bactéries anaérobies, très résistantes, peuvent être dangereuses par leurs toxines. Les *Clostridia* en sont un exemple.

Bien d'autres microflores pathogènes peuvent contaminer le lait. La fréquence de contamination est très variable et souvent plus importante dans les pays en voie de développement.

3-2- Levures

Bien que souvent présentes dans le lait, elles s'y manifestent rarement. Peu d'entre elles sont capables de fermenter le lactose. En fromagerie, de nombreuses levures participent à l'affinage des fromages. Par leurs enzymes protéolytiques et lipolytiques, elles jouent un rôle dans la formation de l'arôme.

Les levures peuvent aussi être néfastes. La présence de levures à la surface des fromages à pâte fraîche est l'indice d'une pollution qui déprécie l'aspect et le goût des produits.

Les levures peuvent aussi participer à la désacidification de la pâte de divers fromages en début d'affinage.

3-3- Moisissures

Sans importance dans le lait liquide, elles intéressent un grand nombre d'autres produits laitiers. Elles se développent en surface ou dans les parties internes aérées. Elles sont productrices de lipases et de protéases. Des *Penicillium* sont utilisés pour recouvrir la croûte des fromages à pâte molle d'une «fleur» blanche ou pour former des veines de couleur bleue dans les fromages à pâte persillée.

Les mêmes moisissures peuvent aussi être indésirables. Un développement excessif de *Geotrichum* à la surface des fromages à pâte molle rend celle-ci glaireuse et coulante. Des veines bleues apparaissant dans la «fleur» blanche des camemberts, les déprécient fortement. L'apparition, à la surface des fromages à pâte molle moisie, de spores de couleur brun-noir dues à d'autres moisissures rend leur commercialisation difficile ou impossible. Bien que généralement sans danger du fait de l'absence de mycotoxines, les produits sur lesquels prolifèrent des moisissures sont le plus souvent considérés comme impropres à la consommation.

B- Les grandes étapes de production

1°) Préparation des laits de fromagerie (33)

Outre sa complexité et son hétérogénéité, le lait peut présenter une composition très variable selon l'espèce animale, la race, l'individu, le stade de lactation, le mode et le moment de la traite, la saison, le climat, l'alimentation... Ainsi tous les laits n'ont pas la même aptitude à la transformation fromagère. La préparation du lait est devenue en fromagerie une étape primordiale du procédé de fabrication pour plusieurs raisons :

- l'aspect légal (respect de l'extrait sec, du rapport gras/sec, du poids moyen, de la qualité hygiénique) ;
- l'aspect technologique (nécessité d'améliorer l'aptitude à la coagulation des laits réfrigérés) ;
- le souhait du consommateur d'avoir un produit de qualité constante dans le temps et dans l'espace ;
- la mécanisation et l'automatisation des procédés technologiques pour augmenter la performance de l'outil de production, se traduisant par un manque de flexibilité et réduisant les interventions des fromagers. La préparation des laits de fromagerie s'appuie donc sur des standards définis par les technologues sur le plan physicochimique et biologique (58).



Figure 2 : Collecte du lait (58)

1-1- Standardisation physicochimique

a- Standardisation en matières azotées protéiques (MAP) **(33)**

Les variations de la teneur en MAP des laits selon les saisons et les régions ont une influence sur l'aptitude du lait à coaguler (organisation et fermeté du gel), sur les rendements fromagers et sur la qualité des fromages.

Pour remédier à la variabilité de la teneur en matières protéiques du lait, les industriels règlent le taux entre 35 et 40 g/L selon différentes méthodes de standardisation :

- *Elimination de l'eau par évaporation ou par osmose inverse*
- *Concentration par nanofiltration*
- *Concentration par ultrafiltration*
- *Enrichissement du lait en concentré de protéines*
- *Enrichissement du lait par microfiltration*

b- Standardisation en matière grasse

Afin de satisfaire le rapport gras/extrait sec total minimum demandé par la législation, et de maîtriser la disponibilité de l'eau dans le fromage, il est nécessaire de standardiser en matière grasse le lait mis en œuvre. La disponibilité de l'eau d'un fromage conditionne l'activité microbienne et enzymatique et par conséquent le processus d'affinage du fromage **(33)**.

Ainsi, on distingue trois types de lait dont les teneurs en matière grasse sont fixées par la loi :

- ✘ Le lait entier qui contient au moins 3,5% de matière grasse.
- ✘ Le lait demi écrémé contenant au moins 1,5% et au plus 1,8%.
- ✘ Le lait écrémé qui ne contient au maximum que 0,3% de matière grasse. **(59)**

c- Ajustement du pH et des équilibres salins (33)

Les matières salines du lait ont une influence déterminante sur les caractéristiques micellaires et le comportement technologique des laits, notamment leur aptitude à la coagulation par la présure.

Les équilibres calciques sont particulièrement importants à considérer, en raison des influences très marquées des teneurs en calcium soluble et ionisé, et en phosphate de calcium colloïdal. Ces équilibres sont essentiellement dépendants du pH, de la teneur en calcium total et de la concentration en caséines. Aussi, on conçoit que les suivis du pH et de la teneur en calcium sont nécessaires à la maîtrise du comportement fromager.

d- lactose (33)

Le lactose est le substrat essentiel des ferments lactiques. La teneur initiale peut conditionner le déroulement de l'acidification lactique. Lorsque les teneurs sont trop élevées, dans certaines fabrications fromagères, le délactosage est pratiqué soit par lavage du caillé soit par ultrafiltration.

1-2- Standardisation biologique

Le lait de collecte ne présente pas toujours toutes les qualités requises pour la réussite des fabrications fromagères. S'ajoutant aux variations sensibles physicochimiques, la flore microbienne du lait, si elle n'est pas contrôlée, peut contenir des germes indésirables susceptibles de provoquer des accidents : bactéries psychrotrophes (bactéries qui se multiplient très bien entre 0 et 10°C), coliformes butyriques ou bien des intoxications (staphylocoques, *Listeria*, salmonelles...).

En dehors des fromages au lait cru AOC (Appellation d'Origine Contrôlée), dont les laits collectés journallement ont une excellente qualité bactériologique, les industriels effectuent des traitements thermiques sur les laits réfrigérés, afin de détruire la flore et les enzymes ou inhibiteurs indésirables, pour mieux contrôler les étapes des grandes fabrications (33).

a- les traitements thermiques (33, 57)

Les traitements thermiques du lait utilisables en fromagerie se divisent en deux groupes, suivant que la température de traitement est inférieure ou supérieure à 100°C. En effet, l'élimination des microorganismes non sporulés peut être obtenue grâce à des températures inférieures à 100°C, alors que les spores sont tuées à des températures supérieures à 100°C.

✘ **inférieur à 100°C** : il s'agit de la pasteurisation, définie par un traitement de référence : 15 ou 20 secondes à 72°C. Ces données proviennent du temps de destruction de bacilles thermorésistants, à savoir le bacille tuberculeux ou *Coxiella burnetti*, qui nécessite un chauffage de 12 secondes à 72°C. La pasteurisation est souvent désignée sous le nom de procédé HTST (High Temperature Short Time), c'est-à-dire procédé à haute température et de courte durée. La pasteurisation est reconnue efficace vis-à-vis des bactéries pathogènes transmises par le lait. En dehors de son effet sur les microorganismes pathogènes éventuellement présents, la pasteurisation détruit plus de 99% des microorganismes que contient le lait cru. Pourtant, cette action a aussi des conséquences négatives car elle élimine les microorganismes qui auraient pu contribuer à la production d'arômes. Cependant, si les bactéries psychrotrophes sont facilement détruites par la pasteurisation, il n'en est pas de même pour leurs lipases et protéases qui ont une thermorésistance considérable.

En fromagerie, des traitements thermiques moins intenses que la pasteurisation sont assez souvent pratiqués. On parle alors de thermisation, ce qui correspond à un chauffage à 62-65°C maintenu pendant 15 à 20 secondes, parfois 1 à 2 minutes. Ces traitements ménagent les aptitudes du lait à la coagulation, tout en assurant une réduction des bactéries indésirables non thermorésistantes, non pathogènes, telles que les bactéries psychrotrophes et les bactéries coliformes.

✘ **supérieur à 100°C** : on parle de stérilisation. Les spores bactériennes de *Clostridium* par exemple, peuvent être présentes dans les laits de vache et provoquer des défauts lors de la fabrication fromagère (gonflement par exemple). Pour réduire la concentration de ces spores, il faut choisir un procédé plus efficace que la pasteurisation tout en optimisant les conséquences du chauffage (ralentissement de la coagulation, caillé moins ferme, augmentation du rendement) vis-à-vis de l'aptitude du lait à la fromagerie.

Un compromis optimal peut en principe être obtenu par un traitement de type UHT (Ultra Haute Température), qui met en œuvre un appareil UHT à injection directe du lait dans la vapeur d'eau. Un autre procédé baptisé HHT (Hyper Haute Température) a été imaginé pour corriger ces inconvénients. Il autorise des traitements d'une durée inférieure au centième de seconde, à des températures pouvant dépasser 180°C. Il est basé sur un principe légèrement différent, celui de l'injection directe de la vapeur d'eau dans le lait.

Ces traitements thermiques affectent non seulement la flore originelle du lait cru, mais aussi ses propriétés technologiques (pertes de l'aptitude à la coagulation, diminution du potentiel biologique). Certaines techniques peuvent se substituer aux traitements thermiques en éliminant, à température modérée, 95 à 99 % de la flore originelle du lait, dont les *Clostridium*, sans altérer les propriétés technologiques :

- La dégermination par microfiltration tangentielle :

Cette technique permet de séparer les microorganismes des autres composants particuliers du lait, du fait de la différence de taille existant entre les micelles de caséines et les bactéries les plus fréquemment rencontrées dans le lait.

- La bactofugation :

Ce procédé, appelé aussi dégermination centrifuge, utilise la force centrifuge pour séparer les microorganismes du lait. Ayant à l'origine été mis au point pour augmenter la durée de vie du lait de consommation ; il s'est développé en fromagerie, pour débarrasser le lait des spores de *Clostridium tyrobutyricum*, bactérie responsable du gonflement de certains fromages.

A la suite de ces traitements thermiques, on peut différencier trois grands types de lait :

- le lait pasteurisé
- le lait UHT
- le lait cru qui se définit comme « étant produit de la glande mammaire d'une ou plusieurs vaches, brebis, chèvres ou bufflonnes d'une seule exploitation de production et non chauffé au-delà de 40°C, ni soumis à un traitement équivalent ».

b- la maturation (33, 60)

La maturation a pour but essentiel de faire du lait le meilleur milieu de culture possible pour les bactéries lactiques, tout en évitant l'implantation éventuelle de germes néfastes pathogènes et technologiquement dangereux. Cette étape consiste à ensemer le lait à l'aide de levains.

Les bactéries lactiques étant des germes exigeants en nutriments, il est manifeste que le lait n'est pas un milieu de culture optimal pour celles-ci. En particulier, elles nécessitent pour leur croissance des acides aminés et de petits peptides. La maturation du lait peut donc être la période au cours de laquelle les bactéries lactiques synthétisent leur « machinerie » protéolytique, qui leur permettra de se multiplier, sans phase de latence excessivement longue lors des fabrications.

Selon le type de fromage fabriqué, différentes techniques de maturation du lait sont appliquées. La microflore lactique doit être présente dans le lait avant l'emprésurage. Dans le cas des laits crus pour la fabrication des fromages AOC, il est parfois proposé un ensemencement sauvage à 12-15°C pendant 15 à 16 heures, favorisant ainsi le développement des bactéries lactiques originelles du lait.

Dans le cas des laits pasteurisés, l'enrichissement peut se faire selon trois types d'ensemencement :

- Les levains traditionnels : l'inoculum fourni subit 2 à 3 repiquages dans du lait, avant d'ensemencer la cuve à levain puis le lait de fabrication. C'est une technique un peu laborieuse qui demande une vérification de l'équilibre bactérien à chaque repiquage.
- Ensemencement dans une cuve à levain : c'est l'une des techniques les plus utilisées en fromagerie, car elle permet de limiter les repiquages. L'inoculation de ferments concentrés dans la cuve à levain permet d'obtenir une culture régulière et un nombre de cellules plus grand que dans les levains traditionnels. L'acide lactique non dissocié étant inhibiteur de la croissance des levains, on le neutralise en le transformant en lactate. L'avantage de cette technique est d'apporter des facteurs de croissance.
- Ensemencement direct des laits de fabrication : l'inoculum de ferments lyophilisés ou congelés est directement mis dans la cuve de fabrication, à raison de 1g pour 100 litres de lait. Largement utilisée pour la fabrication de pâte fraîche, cette technique exclut les autres types de fromages, compte tenu d'un temps de latence long, dû à un manque de facteurs de croissance. Toutefois, cette technique par ensemencement direct représente un coût non négligeable.

La composition microbiologique des levains doit être étudiée. La présence des levures est à éviter dans les fromages frais. Cependant, dans les fromages affinés, leur développement contrôlé et leur maintien à des niveaux élevés pendant l'affinage, ont un rôle incontestable.

Il s'agit :

- soit uniquement, ou très majoritairement de levures (*Kluyveromyces lactis*, *Debaryomyces hansenii*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Torulopsis*, *Rhodotorula* ...) ensemencées avant que le lait ne coagule. C'est le cas des fromages fabriqués à partir de lait pasteurisé, puisque la pasteurisation détruit la quasi-totalité des levures originelles du lait.
- soit de l'intervention conjointe de la flore sauvage du lait et des levures dans les fromages au lait cru. Ainsi, cette diversité enrichit la saveur des produits.

Ainsi, les *Kluyveromyces*, les *Torulopsis* et les *Candida* sont majoritaires dans le fromage de type Cantal, les *Debaryomyces* dans les pâtes pressées ou les pâtes à croûte lavée. L'évolution des levures au cours de l'affinage est caractéristique de chaque type de fromage, car elle dépend très étroitement du " processus " technologique.

Cependant, d'une manière générale, les levures sont nettement plus abondantes sur la croûte qu'au sein de la pâte.

La préparation des laits est devenue une étape indispensable en fabrication fromagère.

L'ensemble des techniques mises en œuvre permet de dissocier les différentes phases de la fabrication fromagère. Cependant, il reste encore à approfondir nos connaissances sur la nature des mécanismes physicochimiques et microbiologiques, intervenant dans les différentes étapes de fabrication.

2°) La coagulation

La coagulation correspond à un changement d'état physique irréversible où un lait au repos, initialement liquide, passe à l'état semi-solide, généralement appelé gel ou plus spécifiquement coagulum. Elle résulte plus précisément de modifications physicochimiques intervenant au niveau des micelles de caséine. Toute modification de la micelle ou de son environnement aura des répercussions sur sa stabilité, et pourra entraîner le phénomène de coagulation. Cette déstabilisation du système colloïdal est à la base de l'ensemble de technologies particulièrement utilisées en fromagerie. On distingue donc deux types de coagulation (33) :



Figure 3 : la Coagulation (58)

2-1- La coagulation par acidification (57, 33, 61)

Sous l'action des bactéries lactiques, qui dégradent le lactose en acide lactique, le lait s'acidifie progressivement. Cette acidification entraîne une neutralisation des charges négatives portées par les caséines. Or, ces charges négatives permettent aux micelles de se repousser selon un mouvement brownien. Dans le même temps, se produit une déminéralisation progressive des micelles qui se désintègrent en sous unités.

Lorsque le pH est égal à 4,6 (point isoélectrique de la caséine), la charge des submicelles est très réduite et la précipitation s'amorce. La neutralisation des charges est complète; les micelles de caséine flocculent et se soudent, formant au repos un gel homogène qui emprisonne le lactosérum et occupe entièrement le volume du lait. Au cours de la déminéralisation du complexe phosphocaséinate de calcium, le calcium colloïdal migre dans le sérum.

L'acidification du lait peut conduire -suivant les conditions -, à un précipité de caséine ou à la formation d'un gel. Si l'acidification est rapide, par addition d'un acide minéral ou organique, il y a floculation des caséines à pH 4,6 sous la forme d'un précipité plus ou moins granuleux dispersé dans le lactosérum. Par contre une acidification progressive, obtenue soit par fermentation lactique soit par hydrolyse de la gluconolactone, conduit à la formation d'un gel lisse homogène qui occupe entièrement le volume initial du lait.

Il est important de noter que la vitesse d'acidification du lait est un facteur limitant les risques de développement de contaminants éventuels.

2-2- La coagulation par voie enzymatique (33)

Un certain nombre d'enzymes d'origine animale, végétale ou microbienne ont la propriété de coaguler le lait :

- enzymes d'origine animale : présure (veau, agneau, chevreau) ou pepsine (porc, poulet)
- enzymes d'origine végétale : ficine (figuier), bromélaïne (ananas)
- enzymes d'origine microbienne : enzymes de certaines moisissures comme *Endothica parasitica* ou de bactéries comme *Escherichia coli*.

La plus couramment utilisée est la présure sécrétée par la caillette des jeunes ruminants non sevrés. Plus précisément, il s'agit d'un extrait liquide pâteux provenant de la macération des caillettes des jeunes ruminants, composée d'un mélange de chymosine et de pepsine.

La coagulation par la présure se déroule en trois étapes :

- L'hydrolyse enzymatique : il s'agit d'une protéolyse limitée de la caséine κ . Lors de la réaction enzymatique, la caséine est scindée. Cette coupure se fait très rapidement, car très sensible à l'action des enzymes coagulantes. La chaîne peptidique est alors coupée en deux segments de caractères très différents. La paracaséine hydrophobe et basique reste associée aux autres caséines au sein de la micelle. Le caséinomaclopeptide (CMP) hydrophile et acide est libéré et passe dans le sérum. Le départ du CMP provoque une diminution importante de la charge des micelles et les répulsions électrostatiques sont ainsi amoindries. Il se produit également une diminution sensible de l'enveloppe d'hydratation car les possibilités de fixation d'eau à la surface des micelles se trouvent fortement limitées.

- L'agrégation des micelles : à la suite de l'hydrolyse enzymatique, les forces répulsives à l'origine de la stabilité colloïdale se trouvent neutralisées et entre micelles proches ou contiguës, des interactions d'ordre hydrophobes et électrostatiques s'établissent : il y a agrégation et formation du gel.
- Réticulation du gel : les micelles agrégées subissent de profondes réorganisations : des liaisons de natures variées s'établissent entre les micelles (électrostatiques, hydrophobes et salines) pour former un gel constitué par un réseau lâche emprisonnant le lactosérum et la matière grasse. Dans le gel ainsi formé, la caséine est présente sous une forme fortement minéralisée. Ce degré de minéralisation élevé confère au gel présure des caractères différents de ceux du gel lactique. Le gel présure est souple, très cohésif, imperméable et contractile.

2-3- Les coagulums (57)

Les mécanismes d'action de la présure et de l'acide lactique, très différents, aboutissent à deux types de coagulums dont les aptitudes à l'égouttage et à l'affinage sont spécifiques de leur mode de formation. Entre ces types extrêmes se placent les coagulums obtenus par l'action simultanée de l'acidification et de l'enzyme.

Les caractères de ces caillés dits mixtes sont déterminés par l'importance relative de chaque agent coagulant. La coagulation strictement acide est peu utilisée, sauf dans quelques fabrications fermières. L'action enzymatique seule conduit à un coagulum qui, pour être transformé en fromage, nécessite une acidification. Ainsi, un coagulum de fromagerie résulte presque toujours de l'action combinée de l'enzyme et de l'acidification. Toutefois, le caractère du coagulum diffère selon le moment où débute l'acidification : avant l'emprésurage (pâtes molles et certaines pâtes pressées non cuites) ou après l'emprésurage et la gélification (pâtes pressées cuites).

Selon le mode de coagulation dont ils résultent, on classe habituellement les coagulums en trois types conduisant à trois grandes catégories de fromages : coagulums à caractère lactique dominant (type «pâte fraîche»), coagulums à caractère présure dominant (type «pâte pressée»), coagulums à caractère mixte (type «pâte molle»).

3°) Egouttage (57, 58, 63, 64)

Le gel formé par acidification ou par action de la présure est dans un état physique instable. Plus ou moins rapidement selon la nature du coagulum, la phase dispersante se sépare spontanément du coagulum sous forme de lactosérum. Ainsi, en observant un gel au repos, on voit spontanément apparaître à sa surface de fines gouttelettes qui grossissent, se rejoignent en traînées festonnées, et finalement forment un film liquide. En même temps, le gel se décolle des parois du récipient et diminue de volume.

L'égouttage est le résultat de deux phénomènes physiques différents:

- un phénomène actif, la synérèse, due à la contraction du gel, particulièrement important dans les coagulums présure. Réalisée par pressage, tranchage ou brassage (contraction des grains de caillé) du gel compact, la synérèse permet de conserver le maximum de sels minéraux. Le découpage du caillé ou tranchage est d'une grande importance. Découpé en petits grains, le caillé conduira par exemple à la formation d'une pâte lisse; Découpé en grains plus gros il donnera naissance à un produit plus acide.



Figure 4 : Le tranchage (58)

- un phénomène passif, résultant de l'aptitude du coagulum à laisser s'écouler le lactosérum occlus; cette exsudation spontanée du sérum, liée à la perméabilité du coagulum, est une des caractéristiques des gels lactiques.

La séparation du lactosérum s'accompagne d'une ségrégation des différents composants originels du lait: la plus grande partie de l'eau et du lactose ainsi qu'une petite fraction de la matière grasse et des protéines sont éliminées par le sérum; la plus grande partie des protéines et de la matière grasse est retenue par le coagulum, dont l'extrait sec croît progressivement à mesure de l'élimination du sérum.

L'acidification du lait avant et après coagulation élimine dans le lactosérum les sels minéraux primitivement fixés sur la micelle de caséine. Le niveau de minéralisation résiduel de la caséine détermine le degré de cohésion du coagulum, son aptitude à l'égouttage ainsi que la matière sèche finale du fromage.

Le moulage : Le caillé peut être pressé dans des moules comme par exemple des toiles cerclées de bois ou d'un autre matériau, ou encore dans des moules perforés. Le fromage adopte ainsi sa forme définitive et un maximum de sérum est expulsé.



Figure 5 : Le moulage

4°) Salage (33, 57, 65)

Il a un triple rôle:

- il complète l'égouttage et contribue à la formation de la croûte;
- il règle l'activité de l'eau du fromage et par là favorise, freine ou oriente le développement des micro-organismes et les activités enzymatiques au cours de l'affinage. C'est donc un facteur essentiel de conservation.
- il relève la saveur du fromage et masque ou exalte le goût de certaines substances formées au cours de l'affinage.

On utilise deux procédés de salage:

- ✖ le salage à sec des fromages par saupoudrage à la main ou à la machine, par frottage ou par incorporation dans le caillé. Ce procédé est utilisé pour les fromages à croûte fleurie (brie, camembert) ou le persillage des fromages bleus (roquefort, gorgonzola). Il s'agit de pulvériser du sel fin sec additionné de *Penicillium*. Le développement de moisissures peut également se faire dans des conditions spécifiques d'entreposage.
- ✖ le salage en saumure généralement saturée (318 g/litre à 20 °C). La plupart des fromages ont une teneur en sel de 1,5 à 2,5 pour cent. Certains fromages orientaux (fêta) conservés en saumure ont un taux de sel de 8 à 15 pour cent et sont généralement dessalés avant leur consommation.

5°) Affinage

L'affinage est défini comme le maintien du fromage pendant un certain temps dans des conditions nécessaires pour que s'opèrent les changements biochimiques et physiques caractéristiques du fromage.

5-1- Mise en œuvre (65)

A la fin de l'égouttage, le coagulum se trouve sous forme d'un gâteau de volume, de forme et de composition déterminés. Mis à part le cas où ce coagulum est consommé à l'état frais, il subit alors un affinage (ou maturation) qui va modifier sa composition, sa valeur nutritive, sa digestibilité et ses caractères organoleptiques. C'est l'étape cruciale où se développent l'aspect, la consistance, l'odeur, la saveur et, si désiré, la croûte (les fromages à pâte fraîche ou les fromages fondus ne sont pas affinés).

L'affinage correspond à un ensemble de dégradations enzymatiques, simultanées ou successives, du substrat (= le caillé) préparé par la coagulation et l'égouttage. Il constitue un processus très complexe en raison de la nature du substrat, de la diversité des agents responsables, de la variété des transformations et du nombre de produits formés. Il est dominé par plusieurs phénomènes biochimiques dont les plus importants sont :

- la dégradation enzymatique des protéines. Les protéines sont hydrolysées à vitesse croissante en éléments de plus en plus simples et à rapidité croissante: polypeptides, peptides, acides aminés, ammoniac.
- l'hydrolyse de la matière grasse. La dégradation de la matière grasse est surtout notable dans le cas des pâtes persillées. Les triglycérides sont hydrolysés en acides gras et glycérol, eux-mêmes pouvant être transformés en résidus aromatiques (aldéhydes, cétones).



Figure 6 : L'affinage

L'affinage s'effectue à une température et à une humidité qui varient selon le type de fromage. La température a un effet direct sur l'activité microbienne et enzymatique; ainsi il existe des températures optimales de maturation de divers types de fromages: entre 8 et 10 °C pour les pâtes molles, 10 et 12 °C pour les pâtes semi-molles et jusqu'à 20 °C pour les pâtes fermes. L'affinage peut être plus ou moins long (de 24 heures à 3 ans dans le cas de certains parmesans); plus l'affinage est long, moins la pâte a conservé d'humidité, et plus le fromage est dur et de saveur prononcée.

5-2- Le travail de la flore au cours de l'affinage (66)

☞ La formation des trous

La formation des trous dans le fromage se fait grâce à la présence de bactéries lactiques dites hétérofermentaires. Pour se développer, ces bactéries doivent être placées dans des conditions de température strictes : entre 12 et 14°. Grâce à leur action, de petites poches de dioxyde de carbone apparaîtront et donneront naissance à de petits trous. Leur taille n'évoluera que très peu au fil du temps.

☞ *Le développement du goût, de la texture et de la couleur du fromage*

Parallèlement au développement des trous, d'autres bactéries ont une action essentielle : les corynéformes (*Corynebacterium flavescens*, *Brevibacterium linens*, *Brachybacterium tyrofermentans* ...). Leur action, qui commence en même temps que celle des bactéries lactiques, se fait d'abord sur la croûte puis gagnera peu à peu l'intérieur du fromage.

Ainsi, plus le fromage sera petit, plus leur action sera rapide. Les corynéformes ont 2 actions essentielles : développer le goût du fromage, lui permettre d'avoir une texture plus onctueuse, moins crayeuse. Toutefois, les corynéformes ne pourraient se développer sans l'action des levures (*Kluyveromyces*, *Debaryomyces*, *Saccharomyces*, *Yarrowia*, *Candida*, *Pichia* et *Geotrichum*...). Travaillant également à partir de la croûte, elles permettent de réduire l'acidité du fromage, créant ainsi les conditions optimales pour le développement des corynéformes.

☞ *Les changements au niveau de la croûte.*

Un troisième type de flore est essentiel : les champignons filamenteux ou moisissures, qui interviendront un peu plus tard que les bactéries et les levures. Ces microorganismes vont permettre à la croûte de sécher et donner naissance au léger feutrage à la surface des fromages à pâte molle de type Camembert (*Penicillium camembertii*), aux veinures bleues-vertes des fromages à pâtes persillées de type Roquefort (*Penicillium roquefortii*), et à l'aromatisation des fromages à pâte pressée de type Saint Nectaire (*Geotrichum candidum*). Il existe des espèces moins fréquentes comme *Gymnoascus* (moisissure impliquée dans le «boutonné» caractéristique de la croûte des fromages Cantal, Salers et Laguiole).

En ce qui concerne le Maredsou, un cycle bien précis sera respecté lors de l'affinage, qui consiste à commencer par laver les fromages les plus vieux et réutiliser l'eau de lavage (qui contient les trois agents de la flore) pour laver les plus jeunes.

Tableau I : Cycle de l'affinage du Maredsou

3 à 4 jours d'affinage	Goût acide Consistance grumeleuse Début de la formation des trous
14 jours d'affinage	Texture optimale Formation des trous terminée Apparition d'un très léger duvet blanc sur la croûte
21 jours d'affinage	Goût optimal Coloration orangée de la croûte avec un duvet blanc

L'ensemencement se fait principalement à la main, en lavant chaque fromage avec de la morge. La morge est une solution à base d'eau de source qui, au fur et à mesure du lavage des fromages, se charge en microorganismes présents sur leur croûte. Cette eau présente l'avantage de ne pas contenir de chlore, qui empêcherait la flore de se développer correctement. L'affinage est un éternel recommencement. Tous les deux jours, chaque fromage est lavé et retourné avant d'être redéposé sur les planches, en bois de sapin par exemple (le bois permet de réguler l'humidité du fromage).

6°) Techniques comparées (65, 72)

6-1- Les pâtes fraîches



Figure 7 : Fromages frais

Les fromages frais (Cottage, Ricotta, Mascarpone, Fromage à la crème, Petit Suisse, Quark) ont coagulé sous l'action des ferments lactiques complétée par une faible addition de présure seulement destinée à donner une légère contractilité au caillé. Ils ne sont pas affinés mais seulement égouttés.

L'égouttage est spontané, lent et incomplet : il est nécessaire d'exercer une action mécanique (centrifugation ou filtration) pour obtenir un fromage suffisamment égoutté. Ne subissant pas d'affinage, ils doivent être consommés rapidement. Ainsi leur durée de conservation est plutôt courte (environ 1 semaine) et varie selon la teneur en eau et les conditions d'entreposage.

Les fromages frais contiennent jusqu'à 80 % d'eau. Ils sont généralement maigres (entre 0,1 et 13 % de matières grasses) et peu énergétiques. Ils deviennent gras et énergétiques lorsqu'ils sont fabriqués avec de la crème (jusqu'à 30 % de matières grasses).

La teneur élevée en eau et le faible degré de minéralisation entraînent un manque de tenue et de cohésion du fromage, qui se présente généralement sous forme d'une pâte qu'il faut conditionner dans des récipients rigides et étanches. Certains d'entre eux contiennent des additifs, notamment des colorants, des agents épaississants et des agents de conservation.

Les fromages frais sont lisses, crémeux ou granuleux, de saveur douce ou légèrement acidulée. Ils sont disponibles nature ou assaisonnés de légumes, de fruits ou d'épices.

6-2- Les pâtes molles

Il s'agit de fromages affinés ayant subi indépendamment de la fermentation lactique d'autres fermentations et dont la pâte n'est ni cuite ni pressée.

Le lait estensemencé à 32-34°C en ferments thermophiles. La formation du coagulum se fait généralement sous l'action dominante de la présure. Le coagulum obtenu présente, de façon plus ou moins accentuée en fonction du fromage, une bonne perméabilité et aptitude à l'égouttage spontané. L'égouttage dure environ 22h dans des salles conditionnées en température et en humidité et peut être accéléré par tranchage ou brassage léger. Plusieurs retournes sont nécessaires pour obtenir la platitude des deux faces.

Les pâtes obtenues ont une teneur en matière sèche comprise entre 42 et 55%, un pH bas (4,2-4,5), puisque lors de l'égouttage des ferments lactiques se développent et acidifient le caillé. L'affinage est de durée variable, mais toujours assez courte (de 10 jours à 2 mois). Pour le camembert l'affinage dure de 10 à 18 jours.

Le taux d'humidité varie entre 50 et 60 % et les matières grasses représentent 20 à 26 % du poids du fromage. Ils acquièrent une croûte plus ou moins veloutée.

Les fromages à pâte molle se répartissent en 3 catégories définies par l'aspect de la croûte et par le procédé de salage:

- Les fromages à croûte fleurie sont recouverts d'une mince couche blanche de moisissure, d'aspect velouté (Camembert, Brie, Brillat-Savarin, Coulommiers). Le salage se fait à sec avec du sel fin additionné de *Penicillium*. Cette croûte fleurie est comestible mais peut avoir un goût prononcé.



Figure 8 : Camemberts

- Les fromages à croûte lavée sont soumis à des lavages en saumure légère qui ont pour but de maintenir l'humidité, la souplesse de la pâte et de la croûte, et d'éliminer certains ferments (Munster, Pont-l'évêque, Livarot, Maroille). Pour assurer un taux d'humidité interne convenable et une fermentation adéquate, ces fromages sont placés en atmosphère humide (près de 90 % d'humidité), et à une température tempérée (entre 12 et 15 °C). L'affinage de certains de ces fromages se termine par un trempage dans un alcool, comme le vin ou la bière.



Figure 9 : Pont l'évêque

- Les fromages à croûte persillée : il s'agit de fromages affinés à pâte légèrement salée, malaxée et d'aspect persillée en raison des moisissures internes de couleur bleue. Les fromages à pâte persillée (bleus) sont des fromages ni cuits, ni pressés, dont le caillé est d'abord réduit en morceaux, moulé, égoutté, salé, puisensemencé de moisissures telles que *Penicillium roquefortii* ou *P. gorgonzola* déposées dans la pâte à l'aide de longues aiguilles. La fermentation s'effectue de l'intérieur vers l'extérieur. Tout un réseau de veinures bleu-vert se constitue sous l'action des moisissures, réseau qui se densifie avec le temps. Ces fromages (Roquefort, Gorgonzola, Bleu de Bresse, Bleu Danois, Stilton) ont un goût poivré, fort et piquant et leur texture est habituellement friable.

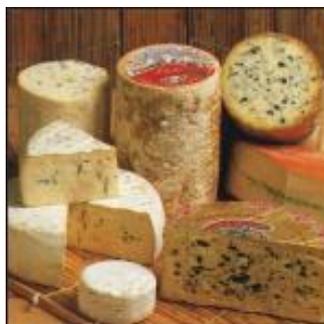


Figure 10 : Fromages persillés de vache

6-3- Les pâtes pressées

Il s'agit de fromages à pâte dure. La coagulation est à caractère présure dominant, le caractère lactique restant limité. Des ferments lactiques sont ajoutés au lait refroidi.

Lorsque l'acidité désirée est atteinte, on ajoute des doses élevées de présure dans des conditions de température favorables à l'action de l'enzyme (de 32 à 40 °C).

Lorsque le coagulum a la consistance souhaitée, il est tranché. Le lactosérum est soutiré et de l'eau est ajoutée. Ensuite c'est le brassage qui active la dissolution du lactose du caillé dans l'eau. Pour certains fromages, cela permet de limiter l'acidification du caillé (pH : 5,2 à 5,4) et d'obtenir des fromages dont le goût est peu prononcé, comme par exemple le Saint Paulin.



Figure 11 : Saint Paulin

L'égouttage est rapide et prononcé. La teneur élevée en matière sèche (de 45 à 70 %) est obtenue par la mise en œuvre d'un ou plusieurs pressage(s).

Après saumurage, les fromages sont disposés sur des claies ou des planches et l'affinage peut commencer. La durée de l'affinage est variable : 3 semaines peuvent suffire mais certains fromages requièrent 9 mois d'affinage. On distingue deux sous-catégories :

- Les croûtes moisies : Saint Nectaire, Tomme de Savoie
- Les croûtes lavées : Saint Paulin, Port Salut, Reblochon

6-4- Les pâtes fermes cuites

La préparation du lait comporte une phase de standardisation en matière grasse et une maturation par ajout de ferments mésophiles et éventuellement thermophiles.

Après coagulation, le caillé subit un décaillage et un brassage pour le transformer en grains. D'une durée de 15 à 60 minutes, cette opération est réalisée à une température variant entre 52 et 55°C. Le caillé est ensuite moulé et pressé pendant 4 à 20h. En fin de pressage les fromages sont salés en saumure puis affinés.

L'affinage se fait généralement à deux températures : « cave froide » (vers 12°C) ou « cave chaude » (environ 20°C). Cette technique d'affinage permet le développement de la

fermentation propionique, à savoir la production de gaz responsable de la formation de trous. Les soins accompagnant l'affinage ont pour but essentiel de contrôler ou d'interdire la prolifération de flores s'implantant spontanément à la surface du fromage.

Ces fromages (Gruyère, Emmenthal, Raclette, Beaufort, Parmesan, Romano) sont ornés ou non d'une croûte résistante, qui est parfois enduite d'huile pour réduire la déshydratation, ou lavés et raclés, ce qui favorise la maturation de la pâte. La texture de la pâte est généralement ferme mais peut être parfois très granuleuse comme dans le cas du Parmesan et du Romano. Certaines meules de ces fromages pèsent entre 40 et 130 kg.



Figure 12 : Gruyère

6-5- Les pâtes fermes non cuites

Les fromages à pâte pressée non cuite ou fromage à pâte demi-ferme, subissent un procédé de fabrication différent : le caillé est réduit en petits grains, puis pressé et ensuite démoulé et trempé dans une saumure.

6-6- Les fromages de chèvre

Les fromages de chèvre sont des fromages à croûte naturelle et peuvent être fabriqués avec 100 % de lait de chèvre (pur chèvre) ou être mélangés à du lait de vache (mi-chèvre s'il contient au moins 25 % de lait de chèvre). Ces fromages présentent une pâte fraîche, ou une pâte molle à croûte fleurie, et à l'occasion une pâte dure. Ils sont plus blancs que le fromage de vache et de saveur plus prononcée. Le fromage de chèvre est généralement humide et lisse; l'intensité de sa saveur dépend de la race et de l'alimentation de l'animal, de la saison et des procédés de fabrication. Les fromages de chèvre sont souvent très salés, afin de prolonger leur durée de conservation.



Figure 13 : Fromages de chèvre

Partie II

LES RISQUES

MICROBIOLOGIQUES

LIES A LA

CONSOMMATION DE

FROMAGE

Après avoir étudié les grandes étapes de fabrication du fromage, nous allons tenter dans un deuxième temps d'évaluer le risque infectieux lié à la consommation de fromage. En effet, les risques ne sont pas négligeables et les intoxications alimentaires dues aux fromages sont décrites depuis le milieu du XX^{ème} siècle dans le monde entier.

Les principaux microorganismes impliqués sont *Brucella*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* entéropathogène, *Salmonella*, Staphylocoques coagulase positive. Ces quatre dernières bactéries sont capables de survivre lors du processus de fabrication des fromages et d'y rester viables pendant quatre semaines (27).

D'autres microorganismes sont parfois retrouvés mais moins fréquemment impliqués dans ces épidémies. Il s'agit des mycobactéries, *Yersinia enterocolitica*, streptocoque β -hémolytique, *Campylobacter*. Nous les évoquerons rapidement.

Ainsi tenterons-nous de répondre aux questions suivantes :

- ☞ Quels sont les réels dangers de la consommation de fromage ?
- ☞ Quels sont les sujets à risques ?
- ☞ Quels conseils le pharmacien peut-il donner à ces consommateurs « à risque » ?
- ☞ Quelles sont les catégories de fromages les plus souvent incriminées ? Ces fromages sont-ils à base de lait cru ou pasteurisé ?

A- Principaux microorganismes impliqués

1•) Listeria monocytogenes

1-1- L'agent pathogène responsable (11, 35, 45, 69)

Bien qu'il existe de très nombreuses espèces de *Listeria*, le germe le plus impliqué dans les cas de listériose humaine est *Listeria monocytogenes*. Il s'agit d'un bacille Gram positif, non capsulé, non sporulé, mobile à 20 °C grâce à ses flagelles péritriches mais immobile à 37°C. *L. monocytogenes* possède des anticorps somatiques O de paroi au nombre de 15 et des antigènes flagellaires H au nombre de 5. La combinaison de ces deux types d'antigènes détermine 17 sérovars. En France, le sérovar 4b domine largement.



Figure 14: *Listeria monocytogenes* (Scanning EM showing Flagella) (69)

L. monocytogenes est une bactérie très résistante: elle peut se multiplier dans des solutions concentrées en sel ou en présence de bile, croître dans des milieux présentant un pH entre 5 et 9,6 en aéro-anaérobiose, une faible quantité d'oxygène lui étant nécessaire (il est qualifié de micro-aérophile) .

L. monocytogenes appartient au groupe des psychrotrophes, germes qui, bien qu'ayant un optimum de croissance au-dessus de 30°C, se multiplient encore, quoique lentement, entre +10°C et -1,5°C. Ces germes peuvent donc se reproduire aux températures de réfrigération et survivre à la congélation.

L. monocytogenes peut ainsi se développer dans les aliments contaminés conservés au réfrigérateur surtout si la durée de conservation est longue. (Figure 15)

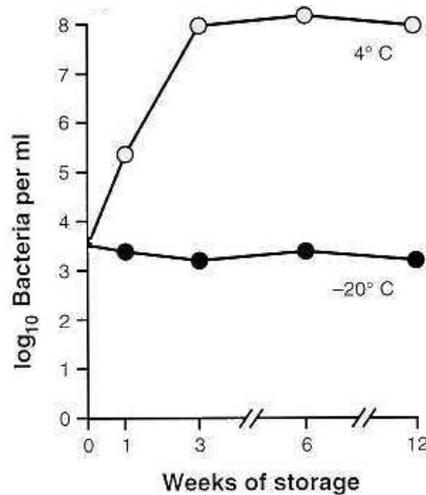


Figure 15 :
Croissance et viabilité de *Listeria* à des températures de congélation (-20°C) et de réfrigération (4 °C) pendant 12 semaines
([Baron's Medical Microbiology](#), [Miscellaneous Pathogenic Bacteria](#))

1-2- La listériose (11, 35, 44)

a- Tableau clinique

Les symptômes les plus fréquemment rencontrés sont très peu spécifiques. On retrouve souvent un syndrome pseudogrippal (fièvre, myalgies, asthénie, céphalées, malaise), des douleurs lombaires simulant une pyélonéphrite, des douleurs abdominales avec nausées et diarrhée orientant vers une gastro-entérite. Les complications se localisent surtout au niveau du système nerveux central. Il s'agit surtout d'atteintes neuroméningées, en particulier des méningoencéphalites, des méningites ou des microabcès cérébraux.

b- Sujets à risque

La listériose n'atteint que très occasionnellement les personnes immunologiquement saines. On estime que cette population est immunisée du fait de contacts répétés avec la bactérie. Ce sont les personnes immunodéprimées et les femmes enceintes qui paient le plus lourd tribut de la listériose. Lorsque les défenses immunitaires de l'hôte sont affaiblies, la listériose peut être très sévère et la mortalité élevée.

C'est le cas pour un fœtus, en particulier lors du troisième trimestre de la grossesse et chez les immunodéprimés (hémopathies, transplantés, SIDA, cancers solides, hépatopathies, hémodialysés, diabétiques mal équilibrés, alcooliques...).

c- Forme materno-foetale

La plupart des formes materno fœtales sont décrites vers le cinquième mois de grossesse. La difficulté du diagnostic de la listériose chez la femme enceinte est liée à la multiplicité et à la diversité des signes cliniques, particulièrement aspécifiques (syndrome pseudogrippal principalement). La mère peut parfaitement être asymptomatique. Toute fièvre inexplicée pendant la grossesse devrait donc donner lieu à la prescription d'hémocultures.

La conséquence sur la grossesse d'une infection maternelle à *L. monocytogenes* dépend bien sûr du terme auquel survient la contamination transplacentaire : soit un avortement, soit un accouchement prématuré (grossesse inférieure à 35 semaines d'aménorrhée dans 70% des cas), soit un enfant mort-né.

1-3- Contamination

a- Mode de contamination (8, 45)

L. monocytogenes est ubiquitaire, c'est-à-dire qu'elle peut être présente dans tout l'environnement (air, eau, sol, poussières, végétaux, animaux). Sa résistance dans le sol est considérable, la bactérie peut y subsister plusieurs années.

Il s'agit d'un pathogène vétérinaire important, associé à des avortements et des encéphalites chez la chèvre et le mouton. Le point de départ de la contamination vient très souvent de la mauvaise qualité de l'ensilage. Le germe est présent dans le foin de départ et se multiplie de façon importante pendant la période d'ensilage si celui-ci n'est pas réalisé correctement. Ainsi l'homme se contamine par la consommation des produits animaux crus (lait, viande, poisson). Des contaminations croisées sont possibles entre les produits alimentaires, lors de contamination par les porteurs sains humains (*L. monocytogenes* est un hôte normal du tube digestif), l'environnement de travail (notamment au niveau des soins) pouvant pérenniser la présence de *L. monocytogenes*.

b- Place des fromages

☞ Comment les fromages sont-ils contaminés ? (8)

La source majeure de contamination est le lait. En effet, *L. monocytogenes* est un contaminant fréquent du lait cru (1 à 9% pollués). Le lait peut aussi être contaminé lors de l'excrétion mammaire (une mammité par exemple) ou beaucoup plus rarement par voie extra mammaire.

La contamination peut être totalement maîtrisée par la séparation du travail du lait (jusqu'à la pasteurisation) des étapes ultérieures de fabrication et par la maîtrise de la conduite de la pasteurisation. Le problème réside dans la contamination en « post-pasteurisation ». Il faut alors prendre en compte :

- La présence de *L. monocytogenes* dans le lait après pasteurisation (point critique non maîtrisé ou contamination par le lait cru)
- Les contaminations humaines
- La persistance du germe dans les compartiments de moulage, égouttage, pressage, salage, affinage-soins aboutissant à une contamination de surface pouvant être significative.
- Pour un produit vendu à la coupe, le rayon de coupe peut permettre des transferts de contamination.

☞ Quels fromages sont concernés ? (46, 47)

Certains fromages peuvent être des produits de consommation à risque dans le cadre de la listériose puisqu'ils constituent un milieu de croissance idéal pour *L. monocytogenes*. Les fromages à pâte molle en particulier, fournissent d'excellentes conditions de croissance et sont souvent impliqués dans les épidémies de listériose (9). D'autres fromages à pâte pressée ou semi-molle peuvent aussi être concernés. La source de contamination est exclusivement localisée à la surface des fromages, autrement dit au niveau de la croûte.

A la suite de certaines épidémies où les fromages étaient le principal véhicule alimentaire contaminant, plusieurs enquêtes ont été menées sur l'incidence de *L. monocytogenes*. Dans l'étude sur les fromages européens en 2000, une des variétés de fromage à pâte pressée a été fabriquée et affinée à l'aide d'une flore d'affinage identique à celle utilisée pour cinq autres fromages à pâte molle et à croûte fleurie. Les fromages à pâte pressés ne présentent aucune trace de contamination alors que les autres sont contaminés par *L. monocytogenes*.

Ces résultats sont en accord avec ceux des autres études dans lesquelles les fromages à croûte fleurie sont les plus fréquemment contaminés par *L. monocytogenes*. Le degré relativement élevé de moisissure de ces fromages, ainsi que l'élévation de pH au cours de l'affinage, sont des facteurs favorisant la croissance de *L. monocytogenes*.

En ce qui concerne la nature du lait utilisé pour fabriquer ces fromages contaminés par *L. monocytogenes*, les résultats des différentes études divergent (tableau II). En effet, de nombreux fromages peuvent être impliqués dans les épidémies, qu'ils soient à base de lait pasteurisé ou non.

Tableau II : Etude comparative de la nature du lait dans les fromages contaminés par *Listeria monocytogenes* (46)

Année	Etude	Nature du lait	Fromages contaminés
1987	Beckers et al. (4)	Uniquement fromages au lait cru	
1995	Eppert (17) et Loncaveric (29)	Plus forte incidence des fromages au lait cru	Pâte semi-molle ou pâte molle
1988	Breer et Schopfer (7)	Incidence similaire des fromages au lait cru ou au lait pasteurisé	
2000	Rudolf et Scherer (46)	Fromages au lait pasteurisé	

c- Epidémiologie

Alors que cinquante cas de listériose étaient répertoriés dans la littérature médicale en 1950, plus de 10000 étaient recensés en 1982, et des centaines sont désormais diagnostiqués chaque année. Maladie d'émergence assez récente, la listériose cependant été occultée par l'opinion publique ces dernières années. En réalité, c'est une pathologie difficile à éradiquer, du fait du faible nombre de cas symptomatiques. L'incidence annuelle mondiale est de 4 à 7 cas par million d'habitants, essentiellement dans les pays industrialisés. Le taux de mortalité est de 20 à 30% des cas. Les infections néonatales représentent environ la moitié des cas de listériose humaine **(6)**.

On distingue trois types épidémiologiques : les cas sporadiques, les cas nosocomiaux (surtout en maternité), et les épidémies alimentaires **(11)**.

- Les formes épidémiques se caractérisent par de nombreux cas avec émergence d'une souche appartenant à un même lysovar et au même pulsovar. Les principales épidémies survenues au cours des trente dernières années sont répertoriées dans le tableau III.
- La listériose peut être sporadique avec un mode d'expansion réduit.
- La transmission nosocomiale se fait essentiellement à partir de matériel contaminé ayant servi à un enfant infecté (thermomètre, incubateur...).

Tableau III : Epidémies de listériose d'origine alimentaire (1, 13, 34, 46)

Pays	Année	Nb de cas (décès)	Aliment incriminé
USA	1979	20 (5)	Légumes crus, lait
Canada	1981	41(18)	Choux en salade
USA	1983	49 (18)	Lait pasteurisé
Suisse (canton de Vaud)	1983-87	122 (34)	Fromage frais Vacherin Mont d'Or
USA	1985	142 (48)	Fromage frais mexicain
USA	1987	11	Beurre
Angleterre	1988		Fromage de chèvre frais
Luxembourg	1989	2	Camembert
Danemark	1989-90	26	Fromage "bleu"
Australie	1990	6 (6)	Pâté
Nouvelle-Zélande	1992	4 (2)	Moules fumées
France	1992	457 (85)	Langue de boeuf en gelée
France	1993	451	Rillettes
Italie	1993	18	Riz en salade
USA	1994	56	Lait chocolaté pasteurisé
Suède	1994	8 (2)	Truite fumée
France	1995	37 (11)	Brie de Meaux au lait cru
France	1997	14	Livarot, Pont l'Evêque au lait cru
France	1998	20	Epoisses
USA	1998	325 (10)	Saucisses
Finlande	1998-1999	18 (4)	Beurre
France	1999	36 (2)	Rillettes, charcuterie
USA	2000	12	Fromage frais mexicain
Japon	2001	86	Pâtes molles (Camembert)

Les données exposées dans le tableau III permettent de tirer quelques conclusions :

- Les produits laitiers sont responsables de près de la moitié des épidémies. Les fromages tiennent une place très importante, qu'ils soient frais, au lait cru ou au lait pasteurisé.
- Ces données confirment l'augmentation du nombre d'épidémies de listériose dans les années 1980 et 1990, s'expliquant sans doute par une surveillance accrue. Les épidémies diminuent par la suite, grâce à des mesures sanitaires et une hygiène alimentaire plus strictes.

Cependant, il n'a pas toujours été évident pour les autorités sanitaires de réguler et de contrôler toutes les épidémies de listériose ; en particulier, lorsqu'il s'agit de fromages frais de préparation artisanale.

- L'épidémie causée par le fromage frais mexicain en 2000 en est un exemple. Cette communauté hispanique fabrique elle-même son fromage à partir de lait cru et le vend dans des petits marchés ou en faisant du porte à porte. Après investigation, on a conclu que le lait utilisé n'était pas infecté. Il s'agirait donc d'une contamination par l'environnement, ce qui prouve l'utilité d'éduquer la population sur les risques de manger ce fromage frais mexicain, le « queso fresco ». Les femmes hispaniques, en particulier, doivent être sensibilisées aux règles d'hygiène alimentaire, surtout si elles sont enceintes. Cela n'est pas toujours évident, compte tenu de la difficulté de compréhension de l'anglais de la population concernée, et de leurs habitudes culturelles alimentaires fortement ancrées. De plus, les lois doivent être renforcées en ce qui concerne la vente de lait cru et de produits frais fabriqués par des producteurs non licenciés **(31)**.

- Les épidémies de listériose sont reconnues aux USA et en Europe. Ainsi, des méthodes de routines permettent d'isoler *L. monocytogenes* lors de gastroentérites suspectes. Ce n'était pas le cas au Japon. L'épidémie de 2001 est la première toxico-infection alimentaire à *L. monocytogenes* documentée au Japon. Bien que quelques cas de listériose néonatale avaient été rapportés, la listériose n'était pas connue comme une étiologie possible de gastroentérite. Les laboratoires de biologie médicale ne recherchaient *L. monocytogenes* ni dans les aliments suspects, ni dans les fèces des patients.

2°) Les salmonelles

2-1- L'agent pathogène (28, 50)

Le genre *Salmonella* appartient à la famille des Entérobactéries et en a les principales caractéristiques morphologiques :

- Les salmonelles sont des bacilles Gram négatif.
- Elles sont habituellement mobiles grâce à une ciliature péritriche.
- Elles peuvent être capsulées, toujours asporulées.

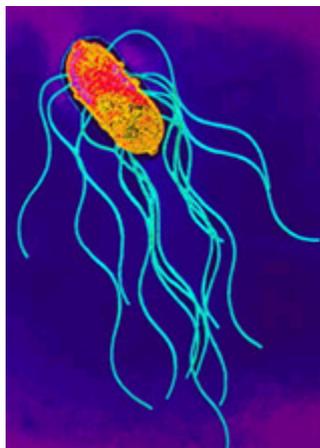


Figure 16 : *Salmonella enterica* (69)

La taxonomie de *Salmonella* est extrêmement complexe. Tout d'abord, on distingue deux groupes de salmonelles :

- les typhiques (*Salmonella* Typhi et *S. Paratyphi* principalement).
- les non typhiques, encore appelées salmonelles mineures, sont responsables des toxi-infections alimentaires.

On retiendra que 99,5% des souches isolées dans les infections non typhiques appartiennent à la sous-espèce 1 de l'espèce *Salmonella enterica* dont les principaux sérotypes sont : *S. Enteridis*, *S. Typhimurium*, *S. Dublin*, *S. Panama*, *S. Heidelberg*, *S. Virchow*.

La température optimale de croissance des salmonelles est de 35-37°C. Cependant le développement reste possible entre 5°C et 47°C mais commence à ralentir en dessous de 4°C. La chaleur détruit les salmonelles et les températures de réfrigération bloquent, sauf exception, leur croissance. Mais elles permettent la survie des salmonelles pendant de très longues périodes.

2-2- Symptomatologie (50)

D'un point de vue clinique, les salmonelloses non typhiques évoluent essentiellement sous forme de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) ou familiales et réalisent un tableau de gastro-entérite aiguë fébrile. Cette gastro-entérite se traduit par une diarrhée aiguë fébrile (fièvre constante supérieure à 38,5°C), accompagnée de céphalées intenses, de nausées, de vomissements et de douleurs abdominales. La déshydratation est le principal facteur de gravité aux âges extrêmes de la vie. La mortalité est faible et concerne uniquement les sujets dénutris, les enfants et les personnes âgées.

2-3- Contamination

a- Mode de contamination (50)

Salmonella est une bactérie résistante dans le milieu extérieur ; c'est une bactérie ubiquitaire. Elle peut survivre parfois très longtemps dans certains réservoirs secondaires (plus d'un an dans les poussières, et jusqu'à 26 mois dans la nourriture).

Le réservoir principal, dans lequel les salmonelles s'expriment activement, est constitué par le tube digestif de leurs hôtes potentiels :

- Si l'hôte est humain, la contamination est directe autrement dit, interhumaine et s'effectue par des porteurs malades, convalescents ou sains. Elle est surtout liée à un manque d'hygiène.

- Si l'hôte est animal, la contamination est indirecte et se fait principalement par voie alimentaire, en particulier par les œufs, la viande crue ou mal cuite, les produits laitiers dont les fromages. En effet, la contamination des fromages est due à une acidification trop lente du caillé qui favorise la croissance des salmonelles.

Tout défaut de conservation peut être à l'origine de la transmission.

b- Epidémiologie (22)

Les épidémies de salmonelles sont les plus fréquentes des TIAC dans les pays industrialisés. Les produits laitiers sont impliqués dans de nombreux épisodes de TIAC, mais ne représentent que 1,8% des TIAC à salmonelles. Néanmoins, les salmonelles apparaissent comme le second agent pathogène le plus souvent rencontré dans les fromages. (13)

Tableau IV : Epidémies de salmonellose d'origine fromagère (13)

Pays	Année	Nombre de cas (décès)	Fromage impliqué	Sérotype	Type de lait
Italie	1981	>100	Mozarella		
USA	1981	321 (2)	Mozarella	Typhimurium	Pasteurisé
Canada	1982		Cheddar	Muenster	Cru
Canada	1984	>1700	Cheddar	Typhimurium	Non pasteurisé
Finlande	1985	35	Fromage frais		Cru
Suisse	1985	215	Vacherin Mont d'Or	Typhimurium	Cru
Angleterre	1989	42	Fromage à pâte molle	Dublin	Non pasteurisé
USA	1989	164	Mozarella	Javiana	Pasteurisé
France	1990	277	Fromage au lait de chèvre	Paratyphi B	Cru
Canada	1994	35	Fromage frais	Berta	Non pasteurisé
France	1993	273 (1)	Fromage au lait de chèvre	Paratyphi B	Cru
France	1995	25 (5)	Mont d'Or	Dublin	Cru
France	1996	14(1)	Mont d'Or	Dublin	Cru
France	1997	113	Morbier	Typhimurium	Cru
France	2001	215	Cantal	Enteritidis	Cru

Le tableau IV rassemble quelques épidémies de salmonelloses d'origine fromagère ; ce qui amène à quelques conclusions :

- La plupart des fromages impliqués dans les épidémies sont fabriqués à partir de lait cru ou non pasteurisé (le lait non pasteurisé n'a pas subi de pasteurisation, mais un autre traitement thermique appelé thermisation).
- Les sérotypes les plus souvent rencontrés sont Typhimurium, Dublin et Paratyphi, majoritaires dans les produits laitiers (27). En ce qui concerne *Salmonella enterica* sérotype Typhimurium, il existe une souche très résistante : la DT104. Cela pose un grave problème de santé publique du fait de sa multirésistance aux antibiotiques. On remarque que lors de l'épidémie de 2001, c'est le sérotype *Enteritidis* qui est en cause. Ce sérotype est habituellement retrouvé dans les œufs. Quant à *Salmonella* Dublin, son réservoir principal est le bétail et c'est l'une des zoonoses à salmonelle la plus invasive.
- En ce qui concerne l'épidémie de 2001, l'enquête analytique révèle que cet épisode était lié à la consommation de fromage Cantal jeune au lait cru. C'est à dire que l'affinage a duré moins de deux mois. De plus, l'enquête environnementale révèle que la fromagerie était contaminée par des salmonelles et que des autocontrôles avaient été réalisés. Ceux-ci étaient positifs, mais aucune déclaration aux autorités sanitaires n'avait été envoyée et aucune mesure corrective n'avait été mise en place par le producteur. Cet exemple démontre l'importance des mesures d'hygiène alimentaire et de sécurité sanitaire, qui auraient pu permettre d'éviter l'épidémie (22).
- Dans la littérature, on retrouve un grand nombre d'épidémies de salmonellose dues à la consommation de fromages. En effet, le nombre de cas est plus important que dans les épidémies de listériose. Cela s'explique du fait que la listériose ne concerne que quelques groupes à risque, ce qui n'est pas le cas pour *Salmonella*.

3°) *Escherichia coli* entéropathogène

3-1- L'agent pathogène (43)

Escherichia coli est à la tête de la grande famille des Entérobactéries. Il s'agit d'un bacille Gram négatif, asporulé, mobile par des flagelles péritriches. Cette bactérie est un hôte habituel du tube digestif de l'homme et de l'animal ; elle constitue environ 80% de la flore intestinale aérobie de l'adulte.



Figure 17: *E. coli* O157:H7

(Transmission EM. American Society for Microbiology) (69)

E. coli est une bactérie qui s'adapte très facilement au milieu dans lequel elle vit grâce à un système de régulation métabolique complexe : sa croissance se fait avec ou sans oxygène, elle ne nécessite pas de facteurs de croissance, et elle s'adapte aux variations de température et de pH.

E. coli est un commensal du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux. Il représente à lui seul la plus grande partie de la flore bactérienne aérobie de l'intestin.

3-2- Tableau clinique (43)

On distingue alors plusieurs sous-groupes de souches en fonction de leur pouvoir pathogène :

- *E. coli* entéropathogène (=EPEC) : agent de diarrhée infectieuse dans les pays en voie de développement
- *E. coli* entérotoxigène (=ETEC) : responsable de la diarrhée du voyageur (la « turista »)
- *E. coli* entéro-invasif (=EIEC) : provoque des syndromes dysentériques, particulièrement en Asie et en Amérique du Sud

- *E.coli* entérohémorragique (=EHEC). Ce sous-groupe est le plus fréquemment rencontré lors des TIAC. Le principal sérotype rencontré est *E.coli* O157 : H7. Ces bactéries sont responsables de diarrhées sanglantes, sans présence de pus dans les selles, ni fièvre. Ces agents pathogènes sont considérés comme modérément invasifs. La toxine produite inhibe les synthèses protéiques et est responsable d'une réponse inflammatoire intense. La principale complication est un syndrome hémolytique urémique (SHU) avec insuffisance rénale aiguë, qui peut se révéler fatale chez les enfants.

3-3- Mode de contamination

Il existe plusieurs modes de contamination :

- ✘ Alimentaire : l'hôte de la bactérie est alors animal. Le bétail est particulièrement concerné puisque *E.coli* O157 : H7 est fréquemment isolée dans les fèces animaux. La plupart des infections humaines proviennent de la consommation de produits animaux : lait, produits laitiers, viande mal cuite. Les fromages constituent une source de contamination non négligeable. En effet, *E.coli* peut survivre longtemps dans le fromage : 60 jours à des concentrations élevées ou bien plus de 15 jours à de faibles concentrations.
- ✘ Si l'hôte est humain, la contamination se fait par manuportage.
- ✘ La contamination peut provenir de l'environnement : l'eau est un très bon vecteur de la bactérie **(8)**.

Tableau V: Epidémies d'infections à *E.coli* d'origine fromagère

Année	Pays	Nb de cas (SHU)	Fromage	Lait	Sérotype	Etude
1983	USA	170	Brie et camembert	Pasteurisé	ETEC O27 : H20	13
1983	Danemark		Brie et camembert	Pasteurisé	ETEC O27 : H20	13
1983	Hollande	69	Brie et camembert	Pasteurisé	ETEC O27 : H20	13
1983	Suisse	66	Brie et camembert	Pasteurisé	ETEC O27 : H20	13
1992-93	France	4 (4)	Fromage frais	Cru	EHEC O119 : B14	10, 13
1994	Ecosse	22 (1)	Fromage de ferme	Cru	EHEC O157 : H7	13
1994	France	4 (4)	Fromage frais	Cru	EHEC O103	13
1998	USA	24	Fromage frais	Cru	EHEC O157 : H7	16
2002	Canada	13(2)	Gouda	Cru	EHEC O157 : H7	24

Deux pathovars d'*E. coli* sont principalement concernés : ETEC et EHEC (tableau V).

- Les épidémies à ETEC sont beaucoup plus bénignes. Lors des épidémies de 1993, ETEC O27 :H20 a contaminé du Brie et du Camembert fabriqués avec du lait pasteurisé. La contamination s'opère en post-pasteurisation, souvent due à un manque d'hygiène ; d'autant plus que *E. coli* s'adapte facilement aux variations de température et de pH. Lors de l'égouttage par exemple, la température influe sur la prolifération de *E.coli* (**8**). Ainsi, plus la température est élevée (autour de 45°C), plus la croissance bactérienne diminue. Mais à température ambiante, elle peut encore progresser. Il est donc très important de contrôler les conditions de température à certaines phases de la production.

- Les épidémies à EHEC sont, quant à elles, plus sévères du fait des complications dramatiques chez l'enfant (Syndrome Hémolytique Urémique). Il n'est pas rare que plusieurs cas de SHU soient retrouvés dans les épidémies. Les fromages impliqués sont au lait cru et souvent frais, fabriqués à la ferme **(14)**.

Il existe un risque non négligeable de contamination par le matériel et par l'eau utilisée lors de la fabrication. La contamination provient alors soit du lait en lui-même, infecté, soit d'un manque d'hygiène.

Lors de l'épidémie de 1998 aux USA, la contamination du fromage était due à une erreur sur la chaîne de production. Du lait cru avait été utilisé à la place de lait pasteurisé, contaminant alors le fromage. Ainsi, le fromage contaminé au lait cru a été commercialisé et étiqueté comme étant fabriqué avec du lait pasteurisé **(16)**.

4°) Les staphylocoques coagulase positive

4-1- L'agent pathogène (43)

Il s'agit de *Staphylococcus aureus* appartenant à la famille des Micrococaceae. Ses principaux caractères bactériologiques sont les suivants :

- C'est un cocci à Gram positif.
- Il est aérobie anaérobie facultative (AAF).
- Les staphylocoques possèdent deux types de coagulase.

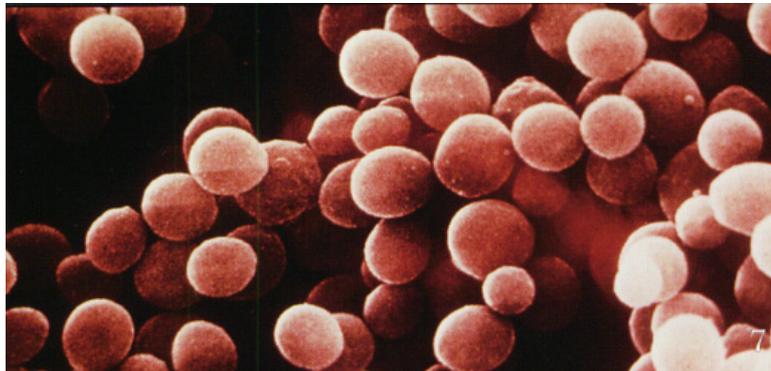


Figure 18: Staphylococcus aureus
(Electron micrograph from Visuals Unlimited, with permission) (69)

4-2- Tableau clinique (23, 43)

Ces bactéries sont responsables d'un très grand nombre d'infections: cutanéomuqueuses, urinaires, impétigo, syndrome de choc toxique et aussi d'infections alimentaires. Dans ce dernier cas, les bactéries produisent une entérotoxine qui résiste à la chaleur et aux sucs digestifs. Il existe sept principales spécificités antigéniques de toxines : A, B, C₁, C₂, C₃, D et E. D'autres toxines ont été également retrouvées et appelées G, H, I, J et K.

La résistance à la chaleur est l'une des caractéristiques physico-chimiques les plus importantes des entérotoxines. L'activité biologique de ces toxines reste donc inchangée, même après traitement thermique lors du processus de fabrication des fromages. Les deux principales toxines retrouvées dans les épidémies à *Staphylococcus aureus* sont les toxines A et B. La toxine A est active à de faibles concentrations.

Les signes cliniques de cette infection sont des nausées, des vomissements, et des diarrhées, habituellement sans fièvre. Ils apparaissent rapidement après l'ingestion de l'aliment contaminé (quelques heures).

4-3- Modes de contamination

Les staphylocoques sont des bactéries commensales de la peau et des muqueuses des hommes et des animaux. Ainsi, plusieurs modes de contamination sont possibles :

a- indirecte : il s'agit d'une contamination par manuportage :

- Les porteurs asymptomatiques jouent un rôle très important dans la transmission et la diffusion de ces microorganismes. Cela touche particulièrement les personnes ayant une activité professionnelle en santé publique ou dans l'agroalimentaire. Lors d'une épidémie en France, on a retrouvé *Staphylococcus aureus* dans les fromages. Après investigation, on s'est aperçu que l'espèce isolée dans les prélèvements nasaux et manuels du producteur était la même que celle retrouvée dans les fromages et produisait les mêmes entérotoxines **(13)**.
- En ce qui concerne la chaîne de production fromagère, la contamination par des staphylocoques est possible à tout moment mais les phases permettant une production suffisante de staphylocoques et qui constituent des points critiques sont la prématuration et de la maturation **(3)**.

b- alimentaire : *Staphylococcus aureus* est le deuxième agent microbiologique le plus fréquemment responsable d'intoxications alimentaires **(13)**. Les produits frais et les produits laitiers en particulier, sont des modes de contamination non négligeables. En effet, la glande mammaire bovine est un réservoir de *Staphylococcus aureus*. De plus, les fromages sont les produits laitiers les plus fréquemment impliqués dans les épidémies. Il s'agit surtout de fromages frais, à pâte molle et à croûte fleurie, et de fromages de chèvre. La contamination survient en post-pasteurisation par le matériel ou provient de l'utilisation de lait cru **(23, 38)**.

D'un point de vue épidémiologique, *Staphylococcus aureus* est le principal microorganisme contaminant les fromages au lait cru lors des épisodes de TIAC en France. Lors de ces épidémies, la quasi-totalité des patients est hospitalisée, mais aucune issue fatale n'a été rapportée **(2, 13)**.

5°) La brucellose

5-1- L'agent pathogène responsable (12)

L'agent pathogène le plus souvent incriminé dans les épidémies de brucellose humaine est *Brucella melitensis* (à 90%). Les réservoirs principaux sont les caprins et les ovins. *Brucella abortus* est retrouvé chez les bovins et *Brucella suis* chez les porcins. Les brucelles sont des coccobacilles Gram négatif, oxydase positive, immobiles, asporulés, souvent capsulés. Elles ont un mode de vie intracellulaire et se répliquent dans le système monocytemacrophagique.



Figure 19 : *Brucella melitensis* (69)

5-2- Symptomatologie (12, 52, 56)

a- Chez l'homme

Sur le plan clinique, cette zoonose est caractérisée par une fièvre ondulante ou en plateau, appelée fièvre de Malte, accompagnée de fortes douleurs. La période d'incubation est très variable. Elle est définie comme l'intervalle entre la première exposition et l'apparition des symptômes. Lors de la phase aiguë, les symptômes sont peu spécifiques et on observe souvent un syndrome pseudo grippal avec des céphalées, des myalgies, de la fièvre, une anorexie... On peut observer des localisations secondaires au niveau articulaire principalement (arthralgies, arthrites périphériques du genou, de l'épaule...) ou génitales.

Le passage à la chronicité (>6 mois) est relativement fréquent. Cela se traduit par des complications qui peuvent être graves : endocardites, symptômes respiratoires ou même des manifestations neurologiques (méningites, encéphalites, abcès cérébraux à l'origine de tétraplégies, d'aphasies ou de dysphasie). Certains cas peuvent être asymptomatiques.

b- Chez l'animal

La brucellose se traduit principalement chez les caprins et les ovins par des avortements. Les formes cliniques sont multiples, localisées ou généralisées, elles peuvent évoluer sur des modes le plus souvent chroniques et plus rarement aigus.

5-3- Mode de contamination (8, 12, 37, 48, 52, 57)

a- Non alimentaire

La contamination se fait principalement par contact direct avec les animaux infectés ou par inhalation. Elle peut aussi être transmise en laboratoire, puisque la brucellose est connue pour être l'une des plus fréquentes infections bactériologiques contractées en laboratoire **(12)**.

b- Alimentaire

La consommation de lait non pasteurisé et de fromage au lait cru est aussi un mode de transmission de *Brucella melitensis*.

☞ Quelle est la place des fromages dans les épidémies de brucellose ?

Les fromages contaminés sont fabriqués sans pasteurisation préalable du lait. En effet, la pasteurisation peut être considérée comme un procédé qui nuit à la maturation de certains fromages. Il s'agit souvent de productions locales et les fromages peuvent être fabriqués à partir d'excès de lait, c'était le cas dans l'épidémie espagnole où les quantités de lait produites dépassaient les quotas de l'UE. De plus, dans certains pays, la consommation de lait cru est considérée comme bénéfique et curative de nombreuses maladies. Un grand travail d'éducation et de sensibilisation est alors à mettre en place auprès de la population **(55)**.

Pourtant la pasteurisation tue les brucelles. *Brucella abortus* survit peu de temps dans un lait porté à 71,1°C (température de pasteurisation), alors qu'elle peut survivre plus longtemps à des températures inférieures (**52**). Les brucelles se développent très bien dans les fromages au lait de chèvre ou de brebis et peuvent y survivre longtemps.

Tableau VI : Temps de survie des brucelles dans certains fromages (52)

Fromage impliqué	Espèce de <i>Brucella</i>	Temps de survie (jours)
Féta	<i>B.melitensis</i>	4-16
Pecorino	<i>B.melitensis</i>	< 90
Roquefort	<i>B.melitensis et B.abortus</i>	20-60
Camembert	<i>B.melitensis</i>	<21
Cheddar	<i>B.abortus</i>	6 mois

☞ D'un point de vue épidémiologique :

A travers quelques exemples cités dans le tableau VII, étudions l'épidémiologie de la brucellose :

Tableau VII : Epidémies de brucellose liées aux fromages

Pays	Année	Espèces	Nb de cas (décès)	Fromage impliqué	Qualité du lait	Etude
USA	1983	<i>B.melitensis</i>	31 (1)	Fromage frais mexicain de chèvre	Lait cru	42
USA	1985	<i>B.melitensis</i>	9	Fromage frais mexicain	Lait cru	42
Allemagne	2002-2003	<i>B.melitensis</i>	62	Fromage Frais de chèvre et de brebis	Non pasteurisé	12
Espagne	2002	<i>B.melitensis</i>	11	Fromage frais de chèvre	Non pasteurisé	37

La brucellose est considérée par l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé), la FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) et l'OIE (Organisation Mondiale de la Santé Animale) comme la zoonose la plus répandue dans le monde.

Elle a été quasiment éradiquée dans la plupart des pays industrialisés mais continue à faire des ravages dans le sud même de l'Europe (Bassin méditerranéen : Espagne, Italie, Croatie, Grèce, Turquie...) et dans de nombreuses zones endémiques sur la planète : Amérique latine, Moyen-Orient, Asie du sud-ouest et quelques pays d'Afrique **(55)**.

En Espagne, la brucellose est la zoonose la plus fréquente (15% des troupeaux touchés), même si le taux d'incidence annuel diminue progressivement. La consommation de fromage de chèvre non pasteurisé a été associée plusieurs fois à des épidémies de brucellose. Lors de la dernière épidémie de 2002, un fromage de chèvre provenant d'une ferme située dans la zone épidémique (donc présentant un risque plus élevé de contracter la brucellose) était incriminé. Or cette ferme avait déjà été inspectée en 2001, et les chèvres confirmées comme positives à *Brucella melitensis*. Les animaux ont été abattus fin 2001. Mais les fromages avaient été fabriqués avec du lait prélevé avant l'abattage, d'où contamination. Les mesures préventives sont donc capitales et auraient permis d'éviter la transmission dès les inspections sanitaires des fermes **(37)**.

Dans d'autres pays industrialisés, quelques cas de brucellose sont rapportés, principalement dus à des mouvements de population lors de vacances ou de migrations. Cela a été le cas dans de nombreux pays : USA, Danemark, Allemagne...

Au Mexique, la brucellose est l'une des pathologies d'étiologie bactérienne la plus répandue. Elle se transmet principalement par les produits frais de chèvre, en particulier le queso blanco –fromage frais de chèvre–, déjà à l'origine de plusieurs épidémies de brucellose aux USA (1983-85). En effet, les fromages consommés par les communautés mexicaines du Texas provenaient de Mexico et étaient fabriqués au lait cru **(42)**.

En Allemagne, le même problème est retrouvé dans les communautés turques. Une épidémie est déclarée en 2002-2003, due à la consommation de fromage de brebis et de chèvre, base de la nourriture turque. La transmission se fait souvent lors d'un retour dans le pays, ou d'une visite des proches **(12)**.

Trois cas sporadiques à Florence, dus à la consommation de fromage au lait cru ont été très longs à diagnostiquer (8 mois après ingestion !). Il a fallu attendre le stade des complications pour découvrir qu'il s'agissait d'une brucellose. Cela met en avant le fait que, même dans une zone non endémique, la brucellose peut exister et qu'il est important de la diagnostiquer au plus vite, afin d'éviter les complications. Les complications sont d'ailleurs plus souvent retrouvées dans les pays non endémiques, du fait de la faible suspicion de brucellose **(48)**.

B- Autres micro-organismes (8, 36)

1°) Mycobactéries

Il s'agit principalement de *Mycobacterium bovis*, bactérie tuberculeuse agent de la tuberculose des bovidés et des caprins. La contamination du lait cru et donc des fromages, est possible mais très peu fréquente à l'heure actuelle. Le risque attaché aux fromages est mineur par rapport à celui de la contamination directe. De plus, la pasteurisation du lait élimine tout risque (51).

2°) *Shigella*

Les contaminations sont avant tout des contaminations directes d'homme à homme, mais peuvent aussi être véhiculées par l'eau et donc transiter par le lait. *Shigella* a tout de même une faible incidence en Europe (20).

3°) *Yersinia enterocolitica*

Cette bactérie se transmet par consommation de produits frais notamment de lait cru. Elle est responsable d'une zoonose se traduisant par d'importantes diarrhées. Le risque de contamination est faible avec les produits laitiers, même si plusieurs études démontrent que le fromage reste un substrat potentiel pour la croissance de ces bactéries psychotrophes (18, 49).

4°) *Campylobacter*

Sa présence dans les fromages est possible. Ses caractéristiques (microaérophilie et thermophilie) justifient d'y prêter attention lors de la conservation. Sa faible résistance aux traitements thermiques minore toutefois le risque.

5°) Streptocoques β -hémolytiques

La contamination peut se faire par manuportage (directe) ou directement par le lait cru (transmission lors d'une mammite par exemple). Ainsi les fromages au lait cru et au lait pasteurisé peuvent être contaminés et sources d'infection pour l'homme. En réalité, peu de cas ont été rapportés (19).

C- Synthèse

A l'issue de cet exposé, plusieurs conclusions se dégagent et nous permettent de répondre aux questions que nous nous posons :

1°) Quels sont les fromages à risque ?

☞ La nature du lait utilisé dans les fromages contaminés est un élément déterminant. Les fromages « à risque » sont-ils à base de lait cru ou pasteurisé ?

Comme nous avons pu le constater, le lait peut contenir une grande variété de microorganismes pouvant être à l'origine de la contamination du fromage. Il apparaît en effet clairement que les fromages les plus fréquemment impliqués sont ceux fabriqués à partir de lait cru, dont la contamination se fait essentiellement par les troupeaux :

- Les animaux se contaminent par la consommation d'eau et d'aliments contaminés, par les fécès ou d'autres sécrétions d'animaux malades ou porteurs
- Les mammites sont également des infections qui touchent les troupeaux et peuvent infecter le lait.
- Par ailleurs, certaines bactéries sont des hôtes normaux du tube digestif.

De plus, dans certains milieux (en particulier celui des agriculteurs), la consommation de lait cru et de fromages au lait cru est une pratique traditionnelle, car ces produits sont considérés comme ayant une valeur nutritionnelle plus élevée.

Concernant les fromages au lait pasteurisé, le risque de contamination est faible. La pasteurisation reste considérée comme une méthode efficace pour l'élimination des microorganismes du lait cru. Dans les faits, des risques peuvent persister, puisque ce procédé ne détruit pas tous les microorganismes. Ainsi, une recontamination est toujours possible en post-pasteurisation :

- Entrée de microorganismes par le lait cru contaminant la chaîne de production.
- Mauvaise hygiène, pouvant être défavorable à tout moment.
- Chaîne du froid non respectée lors du transport et de la conservation

On retiendra donc que **les fromages au lait cru sont les plus souvent incriminés mais que la pasteurisation du lait n'implique pas un risque zéro.**

☞ Quels sont les fromages les plus fréquemment incriminés ?

Les épidémies d'intoxication alimentaire par les fromages démontrent que les fromages à pâte molle et à croûte fleurie présentent un risque significatif de transmission de microorganismes pathogènes supérieur aux autres fromages. Ils constituent en effet un substrat approprié à la croissance de microorganismes :

- Haut degré de moisissure (43%),
- pH élevé (6,8 en moyenne),
- Faible concentration de saumure.

Tous ces éléments expliquent que ces fromages sont susceptibles d'être altérés sur le plan microbiologique et donc d'activer la survie et la croissance des microorganismes.

2°) Quels sont les réels dangers ? Quel est le rôle de conseil du pharmacien ?

Même si quelques épidémies d'intoxications alimentaires dues aux fromages sont relatées dans la littérature, il n'existe pas de danger majeur à consommer des fromages. Cependant, comme certains aliments, ils peuvent présenter un risque, en particulier pour les personnes fragiles : femmes enceintes, personnes âgées, immunodéprimées... C'est auprès de ces personnes que le pharmacien d'officine pourra avoir un rôle de conseil.

Ainsi, le pharmacien conseillera à la femme enceinte de :

- supprimer de son alimentation, par mesure de sécurité, tous les fromages au lait cru.
- ne pas manger de fromage vendu râpé.
- ne pas manger les croûtes des fromages.

Partie III

PREVENTION DES

RISQUES

MICROBIOLOGIQUES :

DU PRODUCTEUR AU

CONSOMMATEUR

A- Généralités sur la sécurité alimentaire

1°) l'hygiène alimentaire: définitions (50)

- Celle présentée par l'assurance qualité 2000

« Ensemble des activités et techniques opérationnelles utilisées en vue de prévenir les risques microbiologiques et/ou chimiques, et/ou physiques, et/ou nutritionnels associés à la consommation des aliments »

- Celle présentée par la directive 93/43/CEE relative à l'hygiène des denrées alimentaires : On entend par « hygiène des denrées alimentaires toutes les mesures qui sont nécessaires pour garantir la sécurité et la salubrité des denrées alimentaires. Les mesures couvrent tous les stades qui suivent la production primaire, que ce soit la préparation, la transformation, la fabrication, le conditionnement, le stockage, le transport, la distribution, la manutention ou la vente ou la mise à disposition du consommateur. »

- Pour le codex alimentarius (1968) :

L'hygiène est définie comme « toutes les dispositions et mesures nécessaires lors de la fabrication, du traitement, du stockage et de la distribution afin de garantir un produit parfait, sain et digeste, qui satisfasse le goût du consommateur »

2°) Le système de sécurité sanitaire: cadre légal européen et mondial (55,70)

La politique de sécurité alimentaire de l'UE (Union Européenne) englobe les chaînes alimentaires humaines et animales. Elle fournit une vaste législation et décrit la responsabilité des producteurs et des fournisseurs dans le maintien de la qualité de l'alimentation. Les règlements de l'UE comptent parmi les plus sévères dans le monde. La législation européenne a été complètement révisée vers la fin des années 90, pour la rendre plus scientifique et transparente.

L'agence européenne pour la sécurité de la chaîne alimentaire (EFSA) a vu, quant à elle, le jour en 2002. L'EFSA est un organisme indépendant qui travaille en étroite collaboration avec de nombreuses agences scientifiques et institutions des états membres de l'UE.

Elle fournit, en toute indépendance, des conseils scientifiques sur toutes les matières en lien avec la sécurité alimentaire. Elle couvre tous les niveaux de la production alimentaire, de la production primaire à la livraison au consommateur. L'EFSA prend également en charge l'évaluation des risques au sein de la chaîne alimentaire et l'évaluation scientifique en matière de santé, de bien-être animal et de santé végétale.

Il existe aussi au niveau mondial la Commission du Codex Alimentarius. Elle a été créée en 1963 par la FAO et l'OMS, afin d'élaborer des normes alimentaires, des lignes directrices et d'autres textes, tels que des Codes d'usages, dans le cadre du Programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires. Les buts principaux de ce programme sont la protection de la santé des consommateurs, la promotion de pratiques loyales dans le commerce des aliments, et la coordination de tous les travaux de normalisation ayant trait aux aliments entrepris par des organisations, aussi bien gouvernementales que non gouvernementales.

3°) Le système de surveillance en France (15, 21, 44)

Organiser un réseau de surveillance est fondamental et fait partie intégrante de la prévention. La surveillance en France est assurée par de nombreuses institutions qui travaillent en collaboration les unes avec les autres :

3-1- La déclaration

On distingue deux procédures de déclaration:

- Le signalement qui consiste à déclarer sans délai les maladies nécessitant une mise en place d'urgence de mesures de prévention individuelle et collective ou d'investigations.
- La notification où toutes les maladies à déclaration obligatoire (MDO) sont déclarées. « *Tout docteur en médecine et directeur de laboratoire d'analyse médicale doit déclarer les cas de maladies sur la liste des Maladies à Déclaration Obligatoire* ». En ce qui nous concerne, il s'agit ici de la brucellose, de la listériose et des TIAC. Les cas doivent être notifiés au médecin inspecteur de la santé publique (MISP) de la DDASS. Pour chaque cas déclaré, le MISP complète l'investigation par un questionnaire portant sur l'alimentation du patient au cours des deux mois précédant l'apparition des premiers symptômes.

En ce qui concerne les TIAC, elles doivent aussi être déclarées aux DDSV (Direction Départementale des Services Vétérinaires) et font l'objet d'une notification immédiate à la DGAL (Direction Générale de l'Alimentation), et ultérieurement de l'envoi d'un rapport d'investigation. Cette déclaration est obligatoire : *« pour tout docteur en médecine qui en a constaté l'existence mais aussi pour le principal occupant, chef de famille ou d'établissement, des locaux où se trouvent les malades »*

Pour certaines pathologies comme la listériose ou la salmonellose, il existe des Centres Nationaux de Référence (CNR) spécifiques. Ces centres contribuent à la surveillance épidémiologique en recueillant les déclarations obligatoires. Ils permettent aussi, en travaillant en collaboration avec les laboratoires de microbiologie, de réaliser des expertises microbiologiques. Le travail réalisé permet ainsi de détecter parmi les souches isolées chez l'homme une augmentation inhabituelle du nombre de souches ayant les mêmes caractéristiques.

Dans ce cas précis, une alerte avertira l'Institut National de Veille Sanitaire (INVS) et la DGAL. Le CNR possède aussi une base de souches d'origine alimentaire, ce qui permet, en cas d'alerte, de comparer les souches humaines aux souches alimentaires lors de l'investigation. De plus, les CNR ont aussi une mission de conseil auprès des professionnels de santé et des pouvoirs publics.

Il existe également des systèmes de surveillance particuliers. Pour *Escherichia coli* par exemple, un réseau de surveillance national des SHU chez les enfants de moins de 15 ans est opérationnel dans certains hôpitaux.

3-2- Alerte-Investigation

Dès que l'alerte est donnée, c'est l'INVS qui intervient. Son rôle est de réaliser une enquête afin de générer une hypothèse sur un aliment véhicule de transmission. Ces hypothèses sont extraites des questionnaires alimentaires, remplis lors des DO (Déclaration Obligatoire).

Lors de l'investigation, les services vétérinaires jouent un rôle capital. En effet, lors de la survenue d'un premier cas, des prélèvements peuvent être réalisés par les services vétérinaires départementaux sur les aliments présents dans le réfrigérateur au moment de la maladie.

3-3- Décision et Surveillance

La décision revient ensuite aux autorités sanitaires (AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments, DGCCRF : Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes, DGAL), qui peuvent retirer de la vente tous les produits susceptibles d'être à risque pour le consommateur.

La surveillance est aussi capitale pour détecter de nouveaux cas qui pourraient survenir.

B- Prévention et contrôle sur la chaîne de production fromagère

1°) Les Normes qualité en hygiène alimentaire

1-1-Le guide des bonnes pratiques d'hygiène (74, 75)

a- le personnel :

Quelques règles d'hygiène doivent impérativement être respectées sur les lieux de travail :

- ✗ Port d'une tenue propre et adaptée empêchant les contaminants fixés sur les vêtements d'entrer en contact avec les fromages.
- ✗ Hygiène personnelle correcte : cela passe par le lavage des mains obligatoire avant chaque reprise du travail (après les pauses, les repas, les toilettes...) ou après toute manipulation contaminante.
- ✗ Hygiène du comportement : interdiction de fumer, de manger, de cracher dans les locaux de travail.

b- les locaux et le matériel :

- ✗ Nettoyage : La maîtrise du nettoyage est primordiale pour diminuer les sources de contamination des produits alimentaires. Son but est de supprimer toutes les souillures en appliquant un détergent par action mécanique.

Quatre principaux paramètres sont à maîtriser :

- Le temps d'action qui correspond à la durée de contact entre le détergent et la salissure pour que le nettoyage soit efficace
 - L'action mécanique : brossage, frottement, jet d'eau, ou vapeur d'eau sous pression.
 - La température, qui augmente la vitesse des réactions chimiques.
 - La concentration du produit pour une efficacité maximale.
- ✗ Désinfection : elle a pour objet de détruire les microorganismes nuisibles et ne peut avoir lieu que sur une surface parfaitement nettoyée. Son efficacité dépend de la concentration du produit utilisé, du temps de contact, de la température, du pH et du type de microorganismes.

1-2- La méthode HACCP (50, 71)

Le système HACCP, ou l'analyse des dangers et maîtrise des points critiques, est un outil méthodologique indispensable pour la maîtrise de la sécurité sanitaire alimentaire. Alors que les programmes d'assurance qualité classiques se focalisent sur des problèmes identifiés au niveau du produit fini, la méthode HACCP est une technique proactive qui identifie les problèmes potentiels et les contrôles durant tout le processus de fabrication, depuis les matières premières jusqu'au consommateur. Les aliments qui ne sont pas produits conformément au système HACCP, ne peuvent pas être vendus sur le marché. Les autorités sanitaires sont chargées de vérifier que ce système est bien appliqué.

On peut représenter le système HACCP par un arbre (Figure 19). Les racines reposent sur un terrain qui a préalablement été travaillé et façonné par les différents personnels de l'entreprise pour construire et développer les outils et les méthodes de travail leur permettant de planter et de faire vivre l'arbre de la sécurité sanitaire alimentaire. Les bonnes pratiques d'hygiène représentent ces bases fondamentales.



Figure 20 : L'arbre HACCP (71)

Le système HACCP adopte une approche rationnelle et systématique qui débute par l'analyse détaillée des procédures de fabrication afin d'identifier les risques potentiels microbiologiques (contamination par organismes pathogènes et leurs toxines), chimiques (mycotoxines, pesticides...) ou physiques. (Principe 1)

Ensuite il faut définir les points critiques et leurs critères. Chacun de ces points correspond aux diverses étapes de fabrication et doit faire l'objet d'un contrôle pour éliminer ou réduire à un niveau minimum les risques potentiels. (Principe 2 et 3) Par exemple, la maîtrise des fromages réfrigérés lors du transport constitue un point critique pour limiter la multiplication des *Listeria*.

Non seulement les producteurs doivent maîtriser leurs activités mais ils doivent aussi être en mesure de démontrer que tous les dangers ont été gérés. Une telle maîtrise implique l'utilisation de méthodes de surveillance aux points critiques (principe 4) pour veiller à l'exécution du contrôle requis (principe 5), et des méthodes de vérification (principe 6) pour garantir que tous les éléments du plan HACCP ont été correctement identifiés et mis en oeuvre. Par exemple, les industries de fabrication des fromages doivent pasteuriser le lait en combinant la durée et la température permettant de tuer les microorganismes pathogènes. Les enregistrements de pasteurisation doivent être conservés en cas de contrôle des inspecteurs des services sanitaires.

Les producteurs doivent fournir une documentation détaillée démontrant qu'ils disposent d'un système HACCP efficace et qu'il n'est pas uniquement appliqué, mais qu'il fonctionne correctement et correspond au niveau de sécurité alimentaire requis. (Principe 7)

1-3- La chaîne du froid (5, 55, 76)

La température des denrées alimentaires est un des paramètres clé pour une alimentation saine. Dans des conditions optimales de température et de composition du milieu, une bactérie peut donner naissance à des millions de bactéries en une journée. Or les technologies du froid permettent de ralentir ou inhibent totalement la croissance microbienne et le développement de toxines dans les fromages sans en altérer les qualités organoleptiques et nutritionnelles. De plus ce mode de conservation a permis de réduire de manière substantielle le nombre de toxi-infections alimentaires dans les pays développés.

L'IIF (Institut International du Froid)

Cette organisation intergouvernementale rassemble les compétences scientifiques et industrielles dans tous les domaines du froid. Sa mission est de faire progresser et diffuser les connaissances se rapportant aux technologies du froid et à toutes ses applications, dans le monde entier. Dans ce cadre, l'IIF s'engage à contribuer à l'amélioration de la qualité de vie et de l'environnement pour un développement durable.

Les recommandations de l'IIF :

- Mettre en place des technologies du froid respectueuses de l'environnement, performantes et appropriées pour la conservation et la commercialisation des denrées périssables.
- Introduire dans les codes d'usage spécifiques des températures maximales recommandées pour la conservation et la distribution des aliments
- Mettre en place dans les chaînes du froid du producteur au consommateur des instruments de mesures de la température de l'air. Ces outils donnent une bonne indication du fonctionnement correct des appareils de production du froid.
- Attacher la plus grande vigilance aux interfaces entre les maillons de la chaîne du froid et de développer les bonnes pratiques de façon à limiter les remontées de température préjudiciables à la qualité des aliments.
- Mettre en place des mesures plus rigoureuses pour les aliments sujets aux contaminations par des bactéries psychotrophes telles que *Listeria monocytogenes* c'est-à-dire des températures plus basses et des multi-barrières se montrant efficaces dans ce contexte
- Mettre en place des outils de traçabilité des températures.
- Intégrer l'approche HACCP dans les formations aux bonnes pratiques du froid, et réciproquement d'intégrer les bonnes pratiques du froid aux formations sur l'HACCP des responsables de sécurité sanitaire des aliments.

2°) Contrôle des cheptels

La prophylaxie de toutes ces épidémies alimentaires dues à la consommation de fromage contaminé commence bien évidemment par le premier maillon de la chaîne : l'animal (39, 41) (Figure 20).

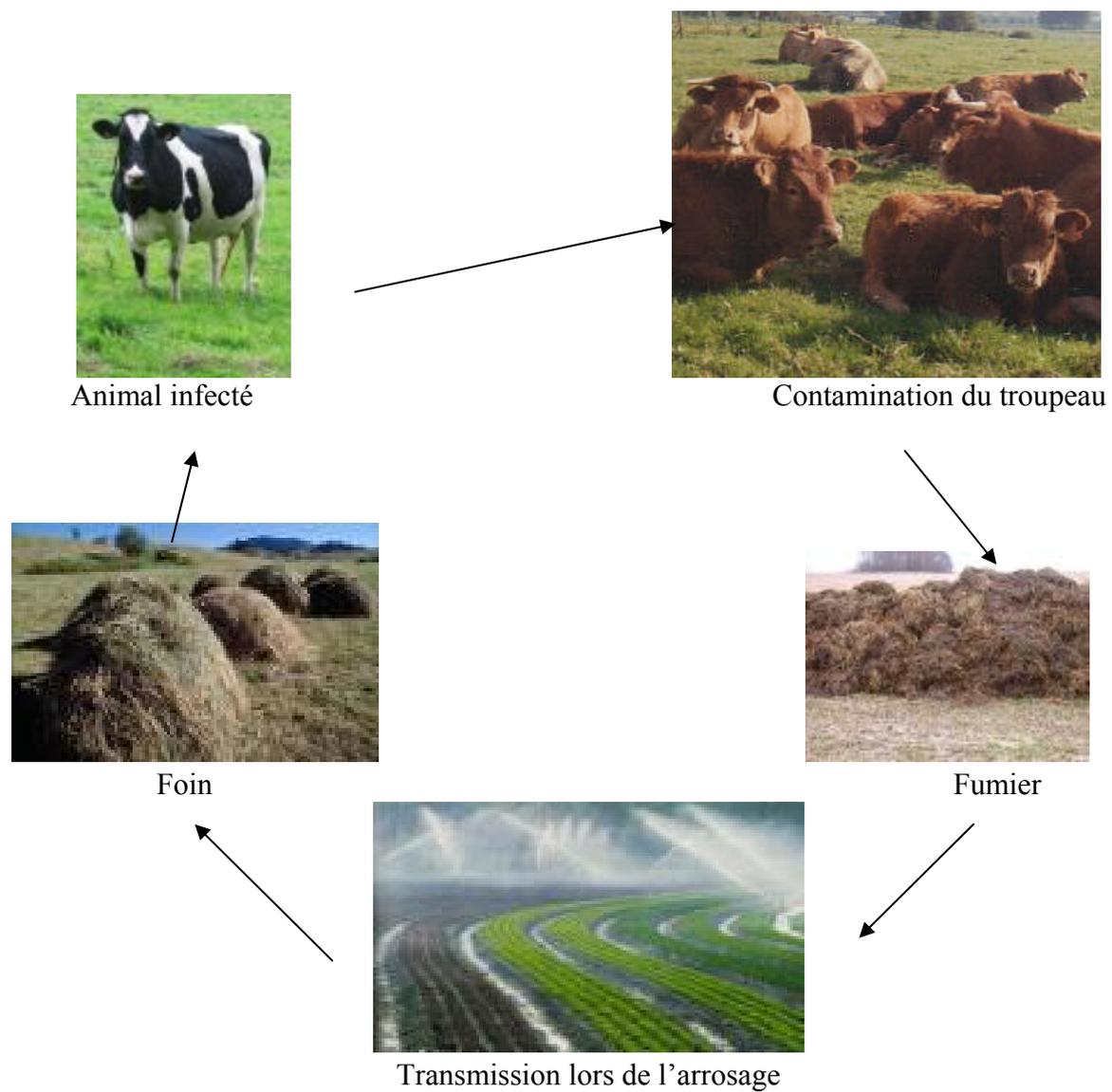


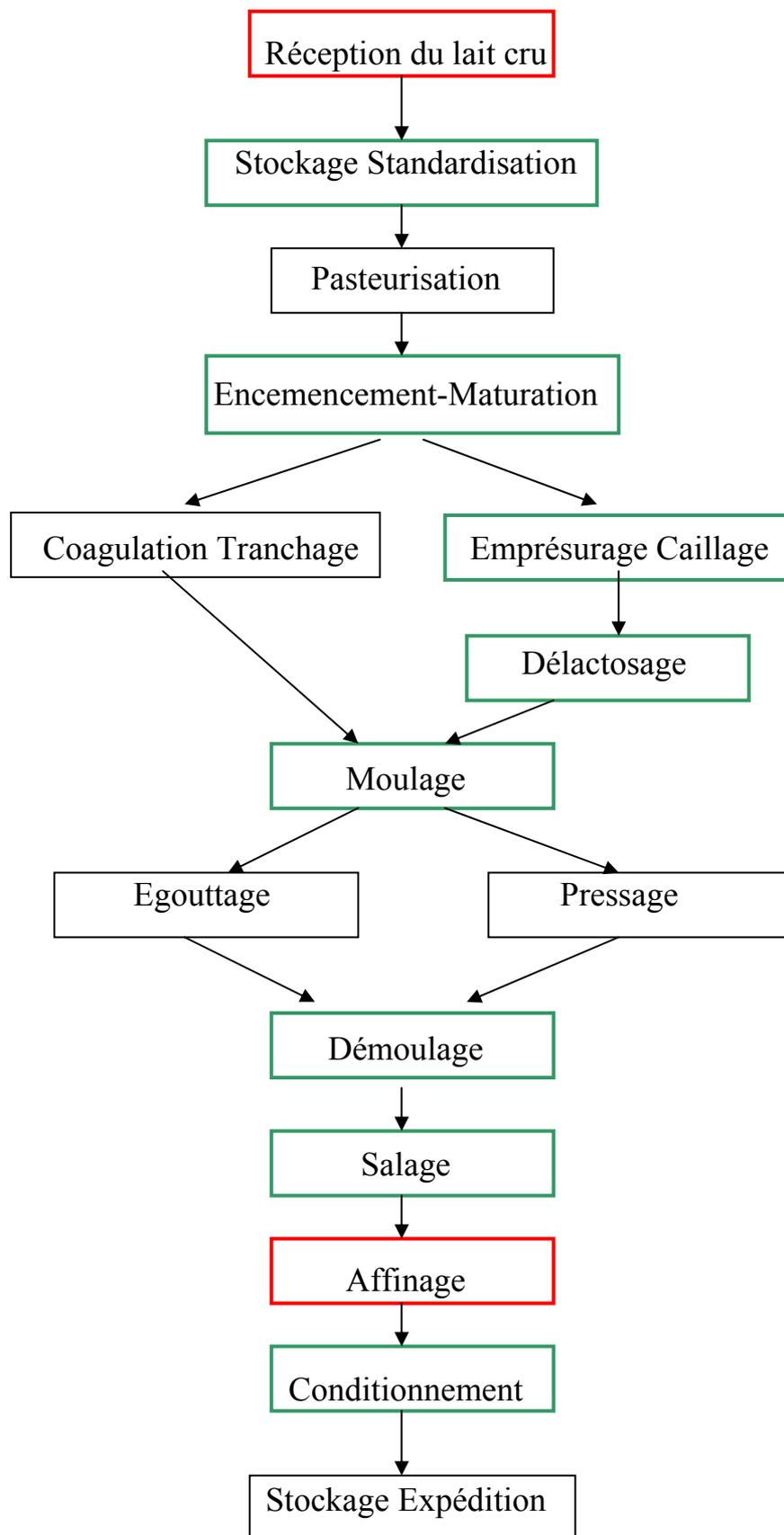
Figure 21 : Contamination en boucle des troupeaux

De nombreux points sont à contrôler :

- L'alimentation et l'eau de boisson des troupeaux sont directement à l'origine de la contamination. L'ensilage est un point critique à surveiller de près en particulier pour les bactéries ubiquitaires. L'eau est un très bon vecteur de bactéries en particulier d'*E.coli*.
- L'hygiène est capitale. En effet, un animal infecté peut très rapidement transmettre la bactérie à tout le troupeau via ses fécès. Pour la même raison, il faut traiter le fumier avec beaucoup de précaution. Utilisé comme engrais, le fumier permet à la bactérie de se répandre dans les cultures et d'infecter ainsi le foin.
- Le contrôle de l'état sanitaire des troupeaux et à fortiori de la présence d'infections est capital. En effet, il peut suffire de quelques animaux infectés pour que l'abattage du troupeau soit nécessaire.
- En ce qui concerne la brucellose, il existe un vaccin. Dans les pays à risques, aucune étude épidémiologique n'est nécessaire avant de lancer la première campagne de vaccination. On doit alors vacciner tous les animaux sains. On utilise deux souches : *B.abortus* souche 19 pour les bovins et *B.melitensis* Rev1 pour les ovins et les caprins. La vaccination doit être répétée tous les deux ans pendant 6 à 8 ans ou jusqu'à ce que la prévalence de la brucellose ait sensiblement baissé. Cependant, en France, la vaccination est interdite chez les ovins et les caprins (sauf dérogation dans des circonstances épidémiologiques particulières). Ainsi, une certaine forme de marquage des animaux vaccinés doit être utilisée à des fins d'import/export. Dans de nombreux pays industrialisés, la brucellose est éradiquée (56).

3°) Contrôles sur la chaîne de production

Sur la chaîne de fabrication des fromages, plusieurs stades présentent un risque non négligeable de contamination (Figure 21). Quels sont-ils et comment les prévenir ?



Stade présentant un risque mineur de contamination :
 Stade présentant un risque majeur de contamination :

Figure 22 : Diagramme de fabrication, points critiques pour la maîtrise (8)

3-1- Préparation du lait (8)

Lors de cette première étape, plusieurs points critiques sont à surveiller :

- La pasteurisation limite le risque de transmission de germes pathogènes. Les points de contrôle pour assurer la maîtrise sont situés au niveau de la conception, de l'installation, de la conduite, du contrôle et de la maintenance du pasteurisateur.
- Le lait est maintenu à une température de 32-34°C dans les tanks jusqu'à l'emprésurage. Un soin particulier est nécessaire car la température, le pH et l'état liquide offrent des conditions optimales de croissance pour des germes contaminants. La surveillance consiste à mesurer la température du lait, le pH, afin d'assurer un réel suivi.
- Ensemencement et maturation : la sélection des ferments et leur bon dosage sont des points critiques du point de vue technologique. En effet la quantité de ferments doit être celle nécessaire à une acidification assez rapide et suffisante. La température du lait doit permettre la croissance des ferments qui est recherchée. Ici on doit donc contrôler la température, mesurer la quantité et la qualité bactériologique des ferments.

3-2- Coagulation- Tranchage- Moulage (8)

Le seul risque est la contamination des bassines, tranches, moules, plateaux, stores... Les actions de surveillance portent donc sur l'efficacité du nettoyage, la désinfection du matériel et l'hygiène du personnel en cas d'intervention manuelle.

Lors d'un délactosage (réalisé pour la fabrication des pâtes pressées), un volume d'eau déterminé est introduit dans la cuve. Par un brassage mécanique, on assure la mise en contact homogène des grains de caillé avec l'eau, ce qui aboutit à appauvrir le caillé en lactose. La qualité de l'eau constitue un point critique, tant du point de vue microbiologique ou de la contamination chimique, que pour les qualités organoleptiques. Il peut être nécessaire d'effectuer un traitement d'assainissement de l'eau destinée au délactosage (pasteurisation ou chloration). La surveillance se fait par analyses périodiques de l'eau pour rechercher des contaminants chimiques et évaluer la qualité microbiologique au point d'utilisation.

3-3- Egouttage (8)

L'égouttage se passe dans des salles conditionnées en température et hygrométrie. Les fromages subissent plusieurs retournes, généralement faites à la main. La maîtrise repose sur le nettoyage des batteries de conditionnement de l'air, la qualité de l'air ainsi que sur les précautions d'hygiène du personnel. Pour cela, on contrôle la qualité bactériologique des salles, des batteries, de l'air et du personnel.

3-4-Salage (8)

Le salage est conditionné par le degré de saturation de la saumure, sa température et le temps de trempage. Au cours du temps, la charge microbienne de la saumure va augmenter et nécessite un assainissement. Cette rupture dans le cycle est faite par pasteurisation ou filtration microbienne. La surveillance de cette étape est l'évaluation de la qualité microbiologique de la saumure ou du sel sec et du taux de sel.

3-5-Affinage (8)

Lors de l'affinage, les conditions de température et d'humidité proches de la saturation sont des conditions favorables au développement des psychrotrophes en particulier *Listeria monocytogenes*. La conception des locaux et des circuits de circulation d'air doit permettre leur nettoyage et leur désinfection entre chaque cycle. Ainsi, on surveille la température, l'hygrométrie et la durée d'affinage. On recherche les contaminants sur le sol, les plafonds, les murs, le matériel et le personnel et on réalise un examen bactériologique de la solution de frottage.

Par précaution les soins devront être effectués dans une salle séparée. De façon plus générale, la conception des locaux et de l'équipement doit éviter les croisements indésirables de produits, permettre la désinfection de ces locaux et éviter toute accumulation d'eau en un point quelconque.

3-6-Conditionnement

L'opération est le plus souvent réalisée par des machines, mais nécessite cependant une manipulation humaine. Tous les fromages doivent passer dans les mêmes mains ou les mêmes ventouses, tapis poussoirs, chambres d'emballage. Le risque de recontamination d'un lot complet à partir de quelques contaminations est trop grand. L'encrassement de tous les matériels en contact avec les fromages augmente les risques de développement des contaminants en cours de journée. Les emballages sont porteurs de poussières qui peuvent véhiculer des germes (7).

L'hygiène du personnel est indispensable à cette étape, ainsi que le nettoyage et la désinfection du matériel, très stricts en particulier lors de rupture de phase. L'air doit être filtré et les zones où les fromages sont nus doivent être séparées des zones où pénètrent les emballages en bois ou en carton, qui véhiculent de la poussière.

Certains fromages type Saint-Paulin, sont présentés sous une pellicule plastifiée enduite de natamycine afin d'éviter que les moisissures ne poussent sur la croûte.

La vérification finale doit avoir lieu après conditionnement (8).

Les industriels et tous les professionnels sont responsables de l'hygiène de leurs fromages. Ils doivent contrôler leur production par des analyses microbiologiques réalisées par un laboratoire d'analyses agréé.

Ces autocontrôles sont obligatoires, puisque les fromages doivent répondre à certains critères microbiologiques, détaillés dans l'arrêté du 30 Mars 1994 du JO du ministère de l'Agriculture et de la Pêche (25). L'article 3 précise que « les analyses microbiologiques prévues par le présent arrêté (dénombrement et recherches de micro-organismes ou de leur toxines) sont effectuées en utilisant les normes internationales et références ou les normes en tant que méthode de routine ».

Les germes recherchés de façon périodique et le cas échéant dénombrés, sont (25, 26) :

- *Escherichia coli* : Dénombrement par gramme (méthode de référence : NF ISO 16649, méthode de routine AFNOR V08-053).
- *Salmonella* : présence dans 25 grammes avec sérotypage (méthode de référence : NF EN ISO 6579).

- Staphylocoques à coagulase positive : Dénombrement par gramme (méthode de référence : NF EN ISO 68888, méthode de routine : AFNOR V08-053). Toutefois, la durée de l'affinage peut aboutir à sous évaluer un développement à un niveau présentant un risque toxinique en amont du process. Toute déviation apparue lors des phases de maturation devra donc donner lieu à une vérification du niveau de staphylocoques autour de J+2, J+4.
- *Listeria monocytogenes* : Présence dans 25 grammes. Dénombrement par gramme à un seuil de détection à 10 par gramme. Le dénombrement est effectué uniquement lorsque la détection a montré la présence de *Listeria monocytogenes*. Pour la recherche, on utilise la méthode de référence NF EN ISO 11290-1 ou la méthode de routine norme AFNOR V08-055. Pour le dénombrement, on utilise la méthode de référence NF EN ISO 11290-2 ou la méthode de routine AFNOR V08-062.

La pratique de ces autocontrôles est un élément fondamental du dispositif sanitaire national. Ils permettent aussi de responsabiliser les professionnels.

C'est à l'industriel qu'il revient d'alerter les services vétérinaires lorsque les autocontrôles indiquent la présence de germes pathogènes. Cependant, la DSV reste un service de contrôle chargé de veiller à la bonne application des réglementations en matière d'hygiène. La DSV peut donc procéder à des contrôles inopinés. En cas de manquement, les sanctions peuvent aller du simple avertissement à la fermeture de l'établissement.

Récemment, la DGAL a mis en place un plan de surveillance de la qualité bactériologique des fromages au lait pasteurisé. L'objectif de ce plan, demandé par la commission européenne est d'évaluer la qualité microbiologique des fromages au lait pasteurisé et d'estimer la prévalence des contaminations.

Les services vétérinaires et les laboratoires vétérinaires sont chargés de mettre ce plan à exécution. Les prélèvements sont basés sur un échantillon représentatif de fromages : frais, à pâte molle et à pâte semi dure. Les analyses microbiologiques sont réalisées conformément aux normes citées précédemment. Les résultats sont ensuite transmis à la DGAL qui prendra les dispositions nécessaires (25).

C- Prévention et Contrôle du point de vue du consommateur

1°) Au supermarché

Les fromages peuvent être vendus en portions préemballées ou à la coupe. Le rayon de coupe constitue un point de contamination à maîtriser. En cas d'intervention humaine directe lors du découpage, les gants et tabliers seront nettoyés et désinfectés.

Pour les portions préemballées, un défaut de présentation peut apparaître à ce stade comme l'apparition de moisissures sur la tranche. La solution est le conditionnement sans oxygène. On contrôle le nettoyage et la désinfection de l'équipement de conditionnement (8).

2°) Lire les emballages

Une fois que le produit est fabriqué, l'emballage alimentaire assure que le fromage atteindra le consommateur dans les conditions optimales. L'emballage préserve l'intégrité, la sécurité et la qualité des fromages au cours du transport, du stockage chez les grossistes, du stockage dans les magasins et à la maison. Il aide à maximiser la durée de vie d'un produit en portant cette information importante sur l'étiquette. De plus, les codes-barres présents sur l'emballage renseignent la date et le lieu de fabrication, ce qui permet au fabricant, au transporteur et au détaillant de conserver une trace des produits pour contrôler l'inventaire des stocks et identifier les dangers potentiels (Figure22) (55).



Figure 23 : Emballage du camembert *Le Normand*

2-1- Conservation

En ce qui concerne la conservation, plusieurs choses sont à vérifier :

- La DLC (Date Limite de Consommation) est exprimée sur le fromage par la mention « à consommer jusqu'au... ». Lorsque cette date est dépassée, le fromage est impropre à la consommation. Cela concerne plutôt les fromages frais.
- La DLUO (Date Limite d'Utilisation Optimale) est exprimée sur le fromage par la mention « à consommer de préférence avant le ... ». Au-delà de cette date, le fromage peut encore être conservé quelques jours à condition d'avoir été conservé dans de bonnes conditions.
- La température à laquelle le fromage doit être conservé.

2-2- Les labels qualité (52, 54, 72, 73)

- AOC



Figure 24 : le label AOC

L'AOC, Appellation d'Origine Contrôlée Laitière, caractérise réglementairement un produit issu d'un terroir délimité et respectueux des usages et des traditions. Elle suppose une démarche et une discipline collectives, nées de la détermination des professionnels concernés à produire et à promouvoir un produit original et de qualité.

L'AOC implique un lien étroit entre le produit, le terroir et le talent de l'homme, avec l'idée de prééminence du terroir, du sol et la notion de non reproductibilité dans un autre terroir.

Pour être reconnu en AOC, le produit, unique et fruit d'une expérience ancestrale, doit :

- provenir d'une aire de production délimitée,
- répondre à des conditions de production précises,
- posséder une notoriété dûment établie, acquise de longue date (c'est cette notoriété que l'appellation vise à protéger)
- faire l'objet d'une procédure d'agrément à la demande des producteurs, aboutissant à une reconnaissance officielle par décret signé des ministres chargés de l'agriculture et de la consommation.

Cette mention et la démarche professionnelle qu'elle consacre sont désormais reconnues et protégées au plan européen et international.

Excluant les excès du productivisme, cette démarche rejoint aujourd'hui les préoccupations de valorisation des ressources sur l'ensemble du territoire, de respect de l'environnement et de développement économique durable.

L'Institut National des Appellations d'Origine est, en France, l'organisme public chargé de la reconnaissance des A.O.C. et de leur protection au plan national et international.

On dénombre actuellement 42 fromages AOC :

- 29 AOC Fromages au lait de vache : Bleu d'Auvergne, Bleu des Causses, Bleu du Vercors –Sassenage, Brie de Meaux, Brie de Melun, Camembert de Normandie, Cantal, Chaource, Epoisses, Fourme d'Ambert, Fourme de Montbrison, Laguiole, Langres, Livarot, Maroille, Munster-Géromé, Neufchâtel, Pont l'Evêque, Saint-Nectaire, Saler, Abondance, Beaufort, Bleu de Gex, Comté, Mont d'or, Vacherin du Haut Doubs, Morbier, Reblochon, Tome des Bauges
- 11 AOC au lait de chèvre : Chabichou du Poitou, Crottin de Chavignol, Pouligny-Saint-Pierre, Sainte Maure de Touraine, Selles sur Cher, Valençay, Banon, Chevrotin, Pélardon, Picodon de la Drome ou de l'Ardèche, Rocamadour
- 2 AOC au lait de brebis : Roquefort et Ossau Iraty

- Label Rouge



Figure 25 : le Label Rouge

Le Label Rouge a été créé par la loi d'orientation agricole de 1960. Il se définit comme « une certification qui atteste qu'un produit agricole ou une denrée alimentaire possède un ensemble de caractéristiques préalablement fixées qui garantissent un niveau de qualité supérieur le distinguant des produits courant similaires, perceptible par le consommateur final notamment au plan gustatif.

Le produit Label Rouge doit apporter la preuve de sa qualité supérieure notamment par des analyses sensorielles. Le logo Label Rouge (Figure24) atteste que le produit répond à un cahier des charges homologué et contrôlé.

Le Label Rouge concerne 4 fromages : Mimolette vieille et extra-vieille, Raclette, Emmental français Est Central Grand Cru, et Brie au lait thermisé.

Le Label Rouge Régional indique des caractères traditionnels représentatifs d'une région. Il concerne 5 fromages : Cancoillotte (Franche-Comté), Emmental et Tomme (Savoie), Vieux Lille et Mimolette du Nord Pas-de-Calais (Nord Pas-de-Calais).

- Mention Agriculture Biologique (AB) :



Figure 26 : la mention AB

L'agriculture biologique a été définie dans la loi d'orientation du 4 juillet 1980 comme un mode de production « n'utilisant pas de produits chimiques de synthèse tant en fertilisation qu'en moyen de traitement phytoparasitaire, et usant de pratiques spécifiques de production (engrais verts, compost, lutte biologique), n'utilisant que les produits de traitement ou de fertilisation figurant sur une liste positive ». Elle atteste en particulier que l'aliment est composé d'au moins 95% d'ingrédients issus du mode de production biologique et qu'au moins 95% des ingrédients ont été contrôlés par un organisme certificateur agréé par les pouvoirs publics français.

En ce qui concerne les fromages, le producteur de lait fait alors l'objet de contrôles particuliers pour obtenir cette certification et le lait est collecté et transformé par une usine laitière dans un circuit réservé « bio ».

- Certification de Conformité :

A la différence du Label Rouge, la Certification de Conformité vise certaines caractéristiques d'un produit et non toutes. Elle atteste « qu'une denrée alimentaire [...] est conforme à des caractéristiques spécifiques ou à des règles préalablement fixées portant sur la fabrication, la transformation ou le conditionnement. Ces caractéristiques doivent être objectives, traçables, mesurables et significatives pour le consommateur. »

C'est le cas pour la Tomme Noire des Pyrénées et l'Emmental français sélection.

2-3-Autres mentions :

- Fromage fermier

Le mode de production fermier et les produits fermiers font l'objet d'une réglementation particulière. Ainsi, dans la production fromagère, l'étiquetage peut comporter le terme fermier lorsque le fromage est fabriqué selon des techniques traditionnelles par un producteur agricole ne traitant que le lait de sa propre exploitation, et sur les lieux même de celle-ci. Ce sont généralement des fromages au lait cru.

- Fromage au lait cru

Quant à elle, la mention « fromage au lait cru » figure uniquement lorsque ce lait n'a pas subi de traitement thermique au-delà de 40°C (température de l'emprésurage). S'il s'agit d'un fromage au lait de brebis ou de chèvre, cela doit être systématiquement précisé. Si rien n'est mentionné, alors ce fromage est fait à base de lait de vache.

3°) Bonnes pratiques de conservation domestique des fromages

Bien conserver, c'est garantir à la fois qualité et hygiène. Cela passe par le maintien de la chaîne du froid, la prévention des contaminations extérieures, la prévention contre la sécheresse de l'atmosphère. Le lieu idéal de conservation d'un fromage serait une cave dont la température et le degré d'hygrométrie seraient parfaitement contrôlés. Cependant, un réfrigérateur convient tout à fait, à condition de respecter les températures de conservation de chaque fromage. Celles-ci dépendent du degré d'affinage :

- Les fromages frais se gardent dans la partie la plus froide (température comprise entre 4 et 6°C).
- Les fromages en cours d'affinage se gardent dans le bac à légumes, à une température proche de 8°C.
- Certains fromages comme le Livarot, le Pont l'Evêque, peuvent être placés dans un placard frais et sec.

Il est important de toujours conserver les fromages dans un emballage, soit celui d'origine, soit du papier d'aluminium ou un film alimentaire. En effet, l'emballage joue un double rôle protecteur contre le dessèchement et la perte de saveur, et contre les risques de contamination microbienne par d'autres produits crus et non nettoyés (les légumes par exemple).

Il ne faut pas remettre au réfrigérateur plusieurs fromages dans un même emballage. Cela accélérerait le développement de flores microbiennes ou de moisissures. Mais une fois emballés individuellement, les fromages peuvent être regroupés dans une boîte en plastique.

L'hygiène domestique est aussi capitale. Le nettoyage du réfrigérateur doit être réalisé au moins une fois par mois afin d'éviter toute contamination. Il faut alors :

- Débrancher le réfrigérateur et le vider.
- Retirer toutes les parties démontables (grilles, bacs) et les nettoyer séparément.
- Passer un détergent sur l'ensemble des surfaces avec une éponge propre. Le nettoyage doit se faire du haut vers le bas du réfrigérateur.
- Rincer abondamment à l'eau claire.
- Sécher avec un chiffon propre.
- Remettre en fonctionnement le réfrigérateur.

CONCLUSION

A l'heure où la grippe aviaire fait la « une » des actualités, les crises alimentaires inquiètent toujours l'opinion publique. Comme d'autres aliments, le fromage, largement consommé en France, peut être un produit à risque. En effet, si la flore microbienne, en constante évolution lors de la fabrication, est mal contrôlée, elle est susceptible d'être la cause d'intoxication alimentaire.

Malgré quelques épidémies relatées ces dernières années, il n'existe pas de danger majeur à consommer des fromages. Il subsiste tout de même un risque pour les personnes fragiles, notamment la femme enceinte. Dans ce cas, un certain nombre de précautions doivent être prises en raison du risque de listériose.

La prévention est capitale et réside dans le contrôle et la maîtrise des points critiques de la chaîne de production (méthode HACCP). La prise de conscience des consommateurs est aussi importante. C'est au pharmacien d'officine, interlocuteur privilégié en matière de Santé Publique, d'éduquer et de sensibiliser ses patients sur les règles élémentaires d'hygiène alimentaire.

Le pharmacien se doit aussi de connaître les fromages sur le plan nutritionnel. De par leur richesse en calcium, phosphore, minéraux et vitamines, les fromages sont indiqués dans la prévention de l'ostéoporose, de la carie dentaire... Cependant, ils peuvent aussi être responsables d'intolérance, d'interactions ou d'allergies alimentaires. Certains fromages contiennent de l'histamine et de la tyramine, comme quelques pâtes cuites (gruyère) et pâtes molles (Brie, Camembert).

INDEX DES FIGURES

Figure 1 : La France des Fromages

Figure 2 : Collecte du lait

Figure 3 : La coagulation

Figure 4 : Le tranchage

Figure 5 : Le moulage

Figure 6 : L'affinage

Figure 7 : Fromages frais

Figure 8 : Camemberts

Figure 9 : Pont l'évêque

Figure 10 : Fromages persillé de vache

Figure 11 : Saint Paulin

Figure 12 : Gruyère

Figure 13 : Fromage de chèvre

Figure 14 : *Listeria monocytogenes*

Figure 15 : Croissance et viabilité de *Listeria* à des températures de congélation (-20°C) et de réfrigération (4 °C) pendant 12 semaines

Figure 16 : *Salmonella enterica*

Figure 17 : *Escherichia coli* O157 ; H7

Figure 18 : *Staphylococcus aureus*

Figure 19 : *Brucella melitensis*

Figure 20 : L'arbre HACCP

Figure 21: Contamination en boucle des troupeaux

Figure 22: Diagramme de fabrication, points critiques pour la maîtrise

Figure 23: Emballage du camembert *Le Normand*

Figure 24: Le Label AOC

Figure 25: Le Label Rouge

Figure 26 : La mention AB

INDEX DES TABLEAUX

Tableau I : Cycle de l'affinage du Maredsou

Tableau II : Etude comparative de la nature du lait dans les fromages contaminés par *Listeria monocytogenes*

Tableau III : Epidémies de listériose d'origine alimentaire

Tableau IV : Epidémies de salmonellose d'origine fromagère

Tableau V : Epidémies d'*Escherichia coli* d'origine fromagère

Tableau VI : Temps de survie des brucelles dans certains fromages

Tableau VII : Epidémies de brucellose liées aux fromages

LISTE DES ABREVIATIONS

AFSSA : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments

AFNOR : Agence Française de Normalisation

AOOC : Appellation d'Origine Contrôlée

CMP : Caséino Macro Peptide

CNR : Centre National de Référence

DDASS : Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociales

DDSV : Direction Départementale des Services Vétérinaires

DGAL : Direction Générale de l'Alimentation

DGCCRF : Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes

DLC : Date Limite de Consommation

DLUO : Date Limite d'Utilisation Optimale

EFSA : Agence Européenne pour la Sécurité de la chaîne Alimentaire

EHEC : *Escherichia coli* Entérohemorragique

EN : Norme Européenne

ETEC : *Escherichia coli* Entérotoxinogène

FAO : Food and Agriculture Organization of the United Nations

HACCP : Hazard Analysis Critical Control Points

HHT : Hyper Haute Température

HTST : High Temperature Short Time

IIF : Institut International du Froid

INVS : Institut National de Veille Sanitaire

ISO : International Standard Organisation

MAP : Matière Azotées Protéiques

MDO : Maladie à Déclaration Obligatoire

MISP : Médecin Inspecteur de la Santé Publique

NF : Norme Française

OIE : Organisation Mondiale de la Santé Animale

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

SHU : Syndrome Hémolytique Urémique

TIAC : Toxi Infection Alimentaire Collective

UHT : Ultra Haute Température

BIBLIOGRAPHIE

- (1): Altekrouse S.F., Timbo B.B., Mowbray J.C., Bean N.H. and Potter M.E. (1998)** Cheese-Associated Outbreak of Human Illness in the USA, 1973 to 1992: Sanitary Manufacturing Practices Protect Consumers *J Food Prot* 10; 1405-7
- (2): Ammon A. (1997)** Surveillance of enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) infections and haemolytic uraemic syndrome (HUS) in Europe *Eurosurveillance* 2 (12), 91-95
- (3): Araùjo V.S., Pagliares V.A., Queiroz M.L.P. and Freitas-Almeida A.C., (2002)** Occurrence of *Staphylococcus* and enteropathogens in soft cheese commercialized in the city of Rio de Janeiro, Brazil *J Appl Microbiol*, 92; 1172-7
- (4): Beckers H.J., Soentoro P.S.S., Delfgou-van Axx E.H.M. (1987)** The occurrence of *Listeria monocytogenes* in soft cheese and raw milk and its resistance to heat. *Int. J. Food Microbiol.*, 4, 249-256
- (5): Billard F. and Viard D. (2002)** Le froid pour la sécurité et la qualité des aliments- Contribution de l'Institut National du Froid. (www.fao.org)
- (6): Boggs JD. , Whitman RE., Hale LM., Briscoe RP., Kahn SE., MacCormack JN., Maillard J-M., Grayson SC., Sigmon KS. (2001)** Outbreak of Listeriosis associated with homemade mexican-style cheese – North Carolina October 2000-January2001 *Morb Mortal Wkly Rep* 50(26); 560-2
- (7): Breer C., Schopfer K., (1988)** *Listeria* and food *Lancet* 2, 1022
- (8): Carlin F., Catteau M., Fach P., Federighi M., FOURNIER J-M., Hembert F., Jouve J-L., Lesne J., Magras C., Nguyen-The C., Perelle S., Pilet M-F., Sutra L., Simonet M. (1998)** Manuel de Bactériologie alimentaire
- (9): Carminati D., Gatti M., Bonvini B., Neviani E. and Mucchetti G. (2004)** High-Pressure Processing of Gorgonzola Cheese: Influence on *Listeria monocytogenes* Inactivation and on Sensory Characteristics *International Association for Food Protection* 67,8: 1671-75
- (10): Casenave C., Desenclos J.C., Maillot E., Benoit S., Deschenes G., Nivet H., Grimont F., Baron S., Mariani P. (1993)** Ecllosion de syndrome hémolytique et urémique dans une commune rurale du Cher. *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire* 48, 222-224
- (11): Cornuault Courtin V. (2002)** Epidémiologie de listériose néonatale de 1987 à 2001 : étude rétrospective cas-témoins des paramètres en faveur de listériose à la naissance.
- (12): Dahouk S.Al, Nöckler K., Hensel A., Tomaso H., Scholz HC., Hagen RM., Neubauer H.(2005)** Human brucellosis in a nonendemic country: a report from Germany, 2002 and 2003 *Eur J Clin Microbiol Dis*; 24:450-6

- (13): De Buysser M-L, Dufour B., Maire M., Lafarge V.** (2001) Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialised countries *Int J Food Microbiol* 67: 1-17
- (14): Decludt B.** (1997) Syndrome hémolytique et urémique en France, épidémiologie des agents responsables. *Institut de Veille Sanitaire*, Saint Maurice, France, 83 pp.
- (15): De Valk H., Rocourt J., Lequerrec F., Jacquet Ch., Vaillant V., Portal H., Pierre O., Pierre V., Stainer F., Salvat G., Goulet V.** (2000) Bouffée épidémique de listériose liée à la consommation de rillettes. *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire*, 4; 1-6.
- (16): Durch J., Ringhand T., Manner K., Barnett M., Proctor M., Ahrabi-fard S.** (2000) Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 Infection associated with Eating Fresh Cheese Curds-Wisconsin, June 1998 *Morb Mortal Wkly Rep* 49(40); 911-3
- (17): Eppert I., Lechner E., Mayr K., Scherer S.** (1995) Listerien und coliforme Keime in “echten” und “fehldeklarierten” Rohmilchweickäsen. *Arch Lebensmittelhygiene* 4, 85-88
- (18): Erkmen O.** (1996) Survival of virulence of *Yersinia enterocolitica* during the manufacture and storage of Turkish Feta cheese *Int J Food Microbiol* 33; 285-92
- (19): Espinosa F.H., Vigil P.L., Gregory D.F., Hilley R.B., Romig D.A., Stamm RB., Suhre PJ., Taulbee PS., Zucal LH., Lindberg PJ., Barchbeck M., Miller JA., Mitzelfelt R., Montes JM., Nims LJ, Rollag OJ** (1983) Group C streptococcal Infections Associated with Eating Homemade Cheese –New Mexico. *Morb Mortal Wkly Rep* 32(39): 510-515
- (20): Garcia-Fulgeiras A., Sanchez S., Guillén J.J., Marsilla B., Aladuena A. and Navarro C.** (2001) A large outbreak of *Shigella sonnei* gastroenteritis associated with consumption of fresh pasteurised milk cheese *Eur J Epidemiol* 17: 533-38
- (21): Goulet V., Jacquet C., Martin P., Vaillant V., Laurent E., De Valk H.**(2004) Surveillance de la listériose humaine en France, 2001. *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire*, 9 ; 33
- (22): Haeghebeart S., Sulem P., Deroudille L., Vanneroy-Adenot E., Bagnis O., Bouvet P., Grimont F., Brisabois A., Le Querrec F., Hervy C., Espié E., De Valk H., Vaillant V.** (2003) Deux épidémies de salmonellose à *Salmonella Enteritidis* lysotype 8 liées à la consommation de Cantal au lait cru, France, 2001 *Eurosurveillance* 8(7/8)151-156
- (23): Holeckova B., Holoda E., Fotta M., Kalinacova V., Gondol J., Grolmus J.** (2002) Occurrence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in food *Ann Agric Environ Med*,9 179-182
- (24): Honish L., Predy G., Hislop N., Chui L., Kowalewska-Grochowska K., Trottier L., Kreplin C., Zazulak I.** (2005) An outbreak of *E. coli* O157 : H7 hemorrhagic colitis associated with unpasteurised gouda cheese *Can J Public Health* 96 (3) 182-4
- (25): Journal officiel.** Arrêté du 30 mars 1994

- (26): Journal officiel** Note de service. Plan de surveillance de la qualité bactériologique des produits laitiers. 2005
- (27): Leuschner R. GK. and Boughtflower M.P.** (2001) Laboratory-Scale Preparation of Soft Cheese Artificially Contaminated with Low Levels of *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enterica* Serovars Typhimurium Enteritidis and Dublin. *J Food Prot* 65(3); 508-514
- (28): Little C.L., S. Knochel** (1994) Growth and survival of *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella* and *Bacillus cereus* in Brie stored at 4, 8 and 20°C. *Int J Food Microbiol* 24; 137-145
- (29): Loncarevic S., Bannermann E., Bille J., Danielsson-Tham M., Tham W.** (1998) Characterization of *Listeria* strains isolated from soft and semi-soft cheese *Food Microbiol* 15, 521-525
- (30): MacDonald K.L., Eidson M., Strohmeyer C., Levy M.E., Wells J.G., Purth N.B., Wachmuth K., Hargrett N.T., Cohen N.L.** (1985) A multistate outbreak of gastrointestinal illness caused by enterotoxigenic *Escherichia coli* in imported semi-soft cheese *J Infect Dis* 151(4), 716-720
- (31): MacDonald D.M.P., Whitwam R., Bogas J.D., MacCormack J.N., Anderson K.L., Reardon J.W., Saah J.R., Graves M.L., Hunter S.B. and Sobel J.** (2005) Outbreak of Listeriosis among Mexican Immigrants as a Result of Consumption of Illicitly Produced Mexican-Style Cheese *Clin Infect Dis* 40;677-682
- (32): MacMeekin T.A., Brown J., Krist K., Miles D., Neumeier K., Nichols D.S., Olley J., Presser K., Ratkowsky D.A., Ross T., Salter M. and Soontranon S.** (1997) Quantitative microbiology: A Basis for Food Safety *Emerging Infectious Diseases* 3; 4
- (33): Mahaut M.** (2000) Initiation à la technologie fromagère. Ed. Tec & Doc
- (34): Makino S.I., Kawamoto K., Takeshi K., Okada Y., Yamasaki M., Yamamoto S. And Igimi S.** (2005) An outbreak of food-borne listeriosis due to cheese in Japan, during 2001 *Int J Food Microbiol* 104: 189-196
- (35): Marchetti P.** (1996) Etude de 225 cas de listériose non materno-fœtale survenus en France en 1992 : Influence des conditions prédisposantes sur les manifestations cliniques et le pronostic de l'infection.
- (36): Marissa M. and Paige J.** (1998) Other foodborne infections. *Veterinary clinics of North America: Food Animal Practice* vol 14(1)
- (37): Méndez Martinez C., Paez Jimenez A., Cortes Blanco M., Salmoral Chamizo E., Mohedano E., Plata C., Varo Beana A.** (2003) Epidémie de brucellose liée à du fromage de chèvre non pasteurisé en Andalousie (Espagne), janvier-mars 2002 *Eurosurveillance* 8(7) : 164-168
- (38): Meyrand A., Boutrand-Loel S., Ray-Gueniot S., Mazuy C., Gaspard C.E., Jaubert G., Perrin G., Lapeyre C. and Vernozy-Rozand C.** (1998) Growth and enterotoxin

production of *Staphylococcus aureus* during the manufacture and ripening of Camembert-type cheeses from raw goats' milk *J Appl Microbiol* 85: 537-544

(39): Montel M.C., Beuvier E., Hauwuy A. (2003) Pratiques d'élevage, microflore du lait et qualités des produits laitiers *Productions animales*, 16 : 279-282

(40): Nooitgedagt A.J., Hartog B.J. (1988) A survey of the microbiological quality of Brie and Camembert cheese *Neth. Milk Dairy J.* 42, 57-72

(41): Olivier S.P., Jayarao B.M. and Almeida R.A.(2005) Foodborne Pathogens in Milk and the Dairy Farm Environment: Food Safety and Public Health Implications *Foodborne Pathog Dis* 2(2) 115-129

(42): Perkins J., Rogers A., Pappas V., Wende R., Epstein J., Thapar M., Jensen F., Gustafson TL., Young E. (1983) Epidemiologic notes and Reports Brucellosis–Texas *Morb Mortal Wkly Rep* 32(42); 548-53

(43): Cours de Mr Reynaud

(44): Richard et al. (2004) Investigations autour des cas de listériose neuroméningée : bilan de 17 mois de fonctionnement (août 2001- décembre 2002) *Bulletin Epidémiologie Hebdomadaire*, 9 ; 35

(45): Rosset R. (2001) Croissance microbienne et froid. Iies
<http://www.iies.es/iie/comites/alimentacion/seguridad310501/ponencia3.htm>

(46): Rudolf M., Sherer S. (2001) High incidence of *Listeria monocytogenes* in European red smear cheese *Int J Food Microbiol* 63: 91-98

(47) Ryser E.T. (1999) Incidence and behaviour of *Listeria monocytogenes* in cheese and other fermented dairy products. Ryser E. T., Marth E.H.(Eds) and Food Safety, Vol 2, Marcel Dekker New-York Basel, pp 411-503

(48): Taliani G, Bartoloni A., Tozzi A., Bartalesi F., Corti G., Paradisi F. (2004) Lumbar pain in a married couple who likes cheese: brucella strikes again! *Clinical Exp Rheumatol* 22(4): 477-80

(49): Tamagnini L.M., De Sousa G.B., Gonzalez R.D., Revelli J. and Budde C.E. (2005) Behavior of *Yersinia enterocolitica* and *Salmonella typhimurium* in Crottin goat's cheese. *Int J Food Microbiol* 99: 129-134

(50): Tellier E. (2005) Sécurité sanitaire des aliments : les TIAC à salmonelles

(51): Winter A., Driver C., Macaraig M., Clark C., Munsiff SS., Pichard C., Driscoll J., Salfniger M., Kreiswirth B., Jereb J., LoBue P., Lynch M. (2005) Human Tuberculosis Caused by *Mycobacterium bovis* -New York city 2001/2004- *Morb Mortal Wkly Rep* 54(24); 605-608

(52): Ziad A. Memish, Hanan H. BalkHy (2004) Brucellosis and International Travel *J Travel Med*; 11: 49-55

- (53): (1996) Food safety *Wkly Epidemiol Rec*
- (54): Les signes officiels de d'identification de la Qualité : www.cidilait.com
- (55): Sécurité alimentaire : La science au service de la table : www.eufic.org
- (56): Directives FAO, OMS, OIE pour l'établissement d'un programme régional de prophylaxie de la brucellose au Moyen-Orient : www.fao.org
- (57): <http://www.fao.org>
- (58): <http://www.orval.be/fr/produits/fromagerie/fromagerie2.html>
- (59): http://www.apaqw.be/code/Pages.asp?Page=2483&CMS_Template_ID
- (60): http://ispb.univ-lyon1.fr/mycologie/Site_lab0_myco/Enseignement/3/Biotechnologie02.htm
- (61): <http://www.izynews.com>
- (62): <http://www.sabaudia.org/v2/dossiers/fromage/public1.php>
- (63): http://www.corman.be/code/p_page.cfm?id_page=459
- (64): <http://www.atome77.com/article-161-Fabrication-des-Fromages-de-la-Brie.htm>
- (65): http://www.servicevie.com/01Alimentation/AlimentVedette/AVf_HTML/HTML_800A/820H.html
- (66): <http://www.maredsous.be/index.php?id=178&L=0>
- (67): www.cnrs.fr
- (68): www.pasteur.fr/actu/presse/dossiers/cnr/salmo.html
- (69): <http://textbookofbacteriology.net>
- (70): http://www.codexalimentarius.net/web/index_fr.jsp
- (71): <http://www.asept.fr/conseil.htm#arbre>
- (72): <http://www.cniel.com/QuiFait/OrgLias/CNAOL/cnaol.html>
- (73): http://terroirs.denfrance.free.fr/p/textes_lois/label_AOC.html
- (74): <http://www.cm-var.fr/pages/devel%20econ/saae/qualite/alimentation/alimentation.htm#c>
- (75): <http://www.fromag.com/hygiene/fiche1.html>

(76): <http://www.rungisinternational.com/pages/fr/Dossiers/ds15.asp>

(77): <http://www.fromag.com/petitsar/petitsar3.html>

(78) : <http://www.richesmonts.com>

(79) : <http://www.ambafrance.org/fr/aaz/alimentation>

Nom- Prénoms : ROUX Emmanuelle

Titre de la Thèse : SECURITE SANITAIRE LIEE A LA CONSOMMATION
DE FROMAGE

Résumé : À l'heure actuelle, les consommateurs sont de plus en plus exigeants en matière de sécurité sanitaire. Les fromages ne sont pas épargnés. Tout au long de la fabrication, la flore microbienne du lait est indispensable à la naissance d'un fromage. Levures, champignons filamenteux et bactéries donnent consistance, aspect, goût et odeur aux fromages. Cependant, certaines bactéries indésirables, responsables généralement d'infections alimentaires bénignes, peuvent avoir de graves conséquences chez les sujets fragiles. *Listeria*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Brucella* en font partie. Il apparaît donc nécessaire de maîtriser et de contrôler ces microorganismes au niveau de tous les maillons de la chaîne alimentaire. Ainsi les risques sont considérablement réduits. Cela passe par la mise en place de règles d'hygiène strictes, de prévention et d'éducation tout au long de la chaîne, du producteur au consommateur.

MOTS CLES : FROMAGE, *LISTERIA*, *SALMONELLA*, SECURITE ALIMENTAIRE

JURY

PRESIDENT : M. Alain REYNAUD, Professeur de Bactériologie
Faculté de Pharmacie de Nantes

ASSESEURS : Mme Nathalie CAROFF, Maître de Conférence de Bactériologie
Faculté de Pharmacie de Nantes
M. Christophe OLIVIER, Maître de Conférence de Toxicologie
Faculté de Pharmacie de Nantes
Mme Catherine PERVIER, Docteur en Pharmacie
43, place de Preux, 44800 St Herblain

ROUX Emmanuelle
31, rue Jules Piédeleu
44100 NANTES