

CARACTERISTIQUES CHIMIQUES ET MICROBIOLOGIQUES DES FROMAGES LIBANAIS ISSUS D'INDUSTRIES LOCALES

H. Dib, E. Hajj Semaan et Z. Noureddine
Faculté d'Agronomie, Université Libanaise, Dekwaneh, Liban
ehajj@ul.edu.lb

(Received 24 May 2008 - Accepted 14 November 2008)

RESUME

Dans le souci de caractériser, de protéger les produits laitiers afin d'augmenter leur compétitivité et de rechercher des probiotiques pour l'industrie laitière, une étude a été réalisée auprès de trente sept industries fromagères dans les régions libanaises. Après une inspection des lieux, des échantillons de produits fromagers (7 Baladi, 22 Akkawi, 18 Double crème et 22 Halloum) ont été collectés et subi des analyses chimiques (pH, acidité, matières sèches MS, taux de lipides et de protéines, azote soluble NS et acides gras libres AGL) et microbiologiques (flore totale, Coliformes, E. coli, Salmonella, Listeria et Staphylocoques). Ces fromages sont fabriqués par 73% des industries fromagères. Les analyses chimiques montrent une faible acidité des produits (0.18 à 0.26 %), une teneur variable en eau (54 à 70%); les matières protéiques varient de 19 à 24%; les matières grasses de 12 à 18%, sauf pour le fromage Double crème (3.26 ± 1.78 %). A l'exception de 8%, ces industries sont loin d'appliquer les principes de base des bonnes pratiques d'hygiène et de production. Ceci est confirmé par les résultats de l'analyse microbiologique. Les coliformes sont présents à des taux alarmants (72 à 86%) dans tous les fromages analysés et dans toutes les régions et industries visitées. Les E. coli sont présents dans 23 à 71% des fromages. Aucun cas de staphylococcus aureus n'a été signalé; Le fromage Halloum est le seul dépourvu de Listeria et de Salmonella. Le fromage Baladi a été le plus contaminé par Salmonella et Listeria (29% des échantillons sont non acceptables pour ces deux bactéries). La listeria a également été retrouvée dans 10% des Akkawi et 17% des fromages Double crème. Ces résultats indiquent un manque d'hygiène et une violation des bonnes pratiques de production. Il serait urgent aux industriels d'adopter une stratégie de prévention efficace pour garantir la qualité des produits.

Mots clés : fromage libanais, analyses chimiques, analyses microbiologiques

ABSTRACT

In order to characterize, protect dairy products and develop new probiotics, a survey was conducted amongst 37 dairy factories. Chemical (pH, acidity, DM, protein, fat, soluble nitrogen and free fatty acid) and microbiological (total aerobic bacteria, Coliforms, E. coli, Salmonella, Listeria, and Staphylococcus aureus) analysis were carried out on samples collected from factories (7 Baladi, 22 Akkawi, 18 Double crème and 22 Halloum) of different regions. These cheeses are made by 73% of visited factories. Chemical analysis

showed low acidity (0.18 to 0.26%), variable levels of moisture (54 to 70%) protein (19 to 24%) and fat (12 to 18%) except Double crème ($3.26 \pm 1.78\%$). Except 8%, Good Hygienic and Manufacturing Practices (GHP/GMP) are not applied in visited factories. This is confirmed with the high levels of Coliforms, detectable in most varieties at an alarming level (72 à 86%). Besides, 23-71% of samples were contaminated with *E. coli*. However, all samples were found free of *staphylococcus aureus*; Halloum cheese was the only one free of *Listeria* and *Salmonella*. The highest off standard for these bacteria was noticed in Baladi cheese where 29% were contaminated with *Listeria* and *Salmonella*. *Listeria* was also found in 10% of Akkawi and 17% of Double crème. These results show a violation of the Good Hygienic and Manufacturing Practices (GHP/GMP) by most factories in all visited regions.

Keywords: Lebanese cheese, chemical analysis, microbiological analysis

INTRODUCTION

Malgré l'importance du secteur laitier au Liban, avec 254.4×10^3 tonnes de lait par an (Ministère de l'Agriculture, 2004), les laiteries, en nombre non négligeable (250 selon le syndicat de l'industrie alimentaire), souffrent de manque d'expertise et restent à un niveau familial et traditionnel pour la majorité. La production journalière est inférieure à 5 tonnes pour la plupart de ces entreprises et le niveau d'hygiène et de sécurité alimentaire des produits finaux reste à découvrir. Des études limitées, réalisées sur le *kishk* (Dib *et al.*, 1998) et sur le secteur laitier en général (Dib, 2000), indiquent que ce secteur a besoin d'appui afin de le développer et d'augmenter sa compétitivité sur le marché. L'application des principes de base des Bonnes Pratiques d'Hygiène (GHP) et de Fabrication (GMP) paraît actuellement indispensable pour la survie d'un produit à long terme. Au moment où l'on s'intéresse à certifier les systèmes de gestion dans le domaine de la sécurité alimentaire (ISO 22000), aucune caractérisation des variétés locales de fromage n'a été réalisée afin de décrire le produit, de l'analyser et de s'assurer s'il est sain et conforme aux normes internationales. D'autant plus que des épidémies dues à la consommation de fromages contaminés par *Listeria monocytogenes* ont été déclarées en Californie en 1985 provoquant la mort de 48 personnes, et en Suisse entre 1983 et 1987 avec 33 décès. La *Salmonella* était à l'origine de toxico-infections alimentaires dues à la consommation de fromage type cheddar en 1976 (Kansas, USA) et en 1982 (Canada). *E. coli* a également provoqué en France une épidémie due à la consommation de fromage au lait cru en 1992-1993 (Doyle, 1989 ; Farber & Peterkin, 1991 ; Decludt, 1996). Ce genre de statistiques est malheureusement inexistant au Liban. Cette étude vise la détermination de la nature des principaux produits laitiers fabriqués par les industries locales dans les différentes régions libanaises, la valeur nutritionnelle et la qualité microbiologique de ces produits par l'analyse des principaux microorganismes pathogènes.

MATERIEL ET METHODES

Enquête et échantillonnage

Trente sept industries fromagères couvrant toutes les régions libanaises ont été visitées : 19% au Liban Nord, 29% au Liban sud, 32% dans la Bekaa et 20% au Mont Liban. Parmi ces industries, 27 fabriquent les fromages les plus rencontrés sur le marché libanais avec des pourcentages variables ; en effet, seulement 19% produisent du fromage Baladi contre 59% pour les fromages Akkawi et Halloum et 49% pour le Double crème (Tableau 1).

TABLEAU 1

Distribution du Nombre et des Pourcentages des Industries Laitières Visitées et Fabriquant les 4 Types de Fromages dans les 4 Mohafazat du Liban

	Liban Nord	Liban Sud	Békaa	Mont Liban	Nb total	% des industries
Baladi	3	2	1	1	7	19
Akkawi	3	7	7	5	22	59
Double crème	4	4	6	4	18	49
Halloum	3	7	8	4	22	59

Afin d'étudier l'état hygiénique des industries visitées, une inspection sur place a été réalisée en se basant sur les critères et recommandations du *codex alimentarius* quant aux Bonnes Pratiques d'Hygiène et de Production (CAC, 2001), ainsi que sur les systèmes de sécurité alimentaire (CAC, 1999).

De chaque industrie visitée, un bloc de chaque type de fromage produit a été prélevé dans des bocaux stériles, conservés à 4° C pour des analyses ultérieures. De chaque bloc, trois échantillons ont été prélevés pour les analyses chimiques et microbiologiques. Les analyses microbiologiques sont réalisées au maximum dans les 48 heures qui suivent le prélèvement ; d'après Lubin (1998), le nombre de bactéries sera seulement multiplié par 1.1 pendant cette durée.

Analyses chimiques

Sur tous les échantillons collectés, le pH ainsi que l'acidité titrable ont été mesurés (AOAC, 1995). La teneur en matières sèches a été déterminée après chauffage dans une étuve d'une prise d'essai de l'échantillon à 105°C pendant 12 heures (AOAC, 1990) et la teneur en matière grasse par la méthode Gerber (AFNOR, 1993). La méthode Kjeldahl a été utilisée pour la détermination du taux de protéines et de l'azote soluble (N soluble). Les acides gras libres (AGL) ont été mesurés par le calcul de l'indice d'acide (Kirk & Sawyer, 1991). Trois répétitions de chaque échantillon ont été réalisées.

Analyses microbiologiques

Les échantillons (10 ou 25 g) ont été homogénéisés avec de l'eau de peptone (90 ml) puis dilués avec une solution Ringer 1/4 (de 10⁻¹ à 10⁻⁶). Les dilutions ont été par la suite ensemencées sur différents milieux de culture pour le dénombrement de la flore mésophile totale mais aussi pour évaluer le niveau de contamination des produits par les germes indésirables suivants : les coliformes totaux, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* et *Listeria monocytogenes*. Trois répétitions de chaque échantillon ont été réalisées. Le Tableau 2 présente, pour chaque bactérie recherchée, le milieu de culture utilisé ainsi que la durée et la température d'incubation.

TABLEAU 2

Milieux de Culture des Bactéries et Conditions d'Incubation

Bactérie	Milieu utilisé	T. incubation (°C)	Durée incubation (h)
Flore totale	Nutrient Agar	37	48
Coliformes totaux	Mc Conkey	37	48
<i>E. coli</i>	Mc Conkey	45	48
<i>Staphylococcus aureus</i>	Chapman	37	36
<i>Salmonella</i>	SS	37	18-24
<i>Listeria monocytogenes</i>	Palcam	37	48

Après une description morphologique, des tests d'identification des différentes bactéries ont été réalisés. Les critères microbiologiques choisis pour l'interprétation des résultats tiennent compte des directives de LIBNOR (2003). Ainsi, le nombre de colonies pathogènes tolérées dans un produit fromager devrait être nul dans 25 g pour *Salmonella* et *Listeria*, inférieur à 10 cfu/g pour *E. coli*, et inférieur à 100 cfu/g pour les coliformes totaux ainsi que pour *Staphylococcus aureus*.

Analyses statistiques

Une analyse de variance (Two way Anova) a été effectuée dans le but d'étudier s'il existe un effet industrie ou région (fromage x région ; fromage x industrie) en utilisant SigmaStat (1992-1995). Le même programme a été utilisé pour le calcul des coefficients de corrélation de Pearson.

RESULTATS ET DISCUSSION

Etat des lieux des industries visitées

Les fromages Baladi, Akkawi, Double crème et Halloum sont fabriqués par 73% des industries laitières visitées. Les visites d'inspection des industries fromagères ont montré qu'à l'exception de 8% seulement, les industries sont loin d'appliquer les principes de base des Bonnes Pratiques d'Hygiène (GHP) et de Production (GMP). Au moment où l'on s'intéresse à certifier les systèmes de gestion dans le domaine de la sécurité alimentaire (ISO 22000), les industries visitées confrontent de sérieux problèmes. Le manque d'hygiène du personnel, les mauvaises conditions environnementales aux alentours de l'industrie (proches de fermes d'élevage...), les mauvais systèmes de ventilation, d'éclairage, de drainage des eaux usées ainsi que le manque d'entretien des différentes parties des bâtiments (portes, fenêtres, sol, plafond...) sont rencontrés dans toutes les industries. De plus, la qualité de l'eau n'est pas suivie et aucun programme d'entretien des équipements n'est assuré. On note également l'absence de programme de nettoyage et de désinfection avec une grande difficulté de bien mener ces procédures à cause de la présence de câbles électriques, de tuyauteries d'eau....

Selon le producteur, le facteur déterminant dans la qualité d'un produit laitier est surtout organoleptique. Ainsi, on accorde beaucoup d'attention à la couleur, l'uniformité, l'homogénéité mais pas à la sécurité sous prétexte que "le produit est salé et a une durée de vie courte". Ceci indique l'ignorance des processus de contamination et d'oxydation des produits et le non respect des bonnes pratiques hygiéniques et du système d'assurance de la qualité. Le problème de sécurité des produits laitiers n'a que récemment été soulevé à la suite de la détection de produits contaminés sur le marché local.

Modes de transformation fromagère des principales variétés libanaises

Les variétés de fromage libanais sont préparées avec des méthodes simples et similaires. Les principaux fromages (Akkawi, Halloum, Double crème et Baladi) sont produits selon des méthodes traditionnelles qui n'ont pas été modifiées. En effet, une coagulation de la caséine du lait est provoquée par la présure à 35 °C. Le coagulum obtenu est drainé et/ou mis sous pression pour produire le fromage. Ainsi, Akkawi est du Baladi sous pression et Halloum est un Akkawi bouilli dans le lactosérum ; le fromage Double crème provient du lactosérum après coagulation et floculation suite à l'addition de lait en poudre, entier ou écrémé. Ces fromages sont consommés frais (Baladi) ou préservés dans une saumure (20%). La salinité élevée masque les caractéristiques originales du fromage et réduit sa qualité.

Caractérisation chimique des échantillons collectés

Les résultats des analyses chimiques des fromages collectés, présentés dans le Tableau 3, montrent une faible acidité des produits allant de 0.18 (Baladi et Double crème) à 0.26 (Halloum) et des variabilités importantes des teneurs en eau, avec la valeur la plus élevée pour le fromage Baladi (70 %) ; ceci est expliqué par la traditionnelle méthode de fabrication de ce fromage. En effet, il s'agit d'une précipitation enzymatique directe (présure) du lait caillé sans aucune adjonction d'additifs (culture ou chlorure de calcium). Le caillé est ensuite manuellement collecté et laissé drainer sans pression. Ce fromage retient le taux le plus élevé en eau par rapport aux autres types de fromages. Les matières protéiques varient de 18.87 ± 1.67 % (Baladi) à 24.35 ± 0.78 % (Double crème). En ce qui concerne les matières grasses et à l'exception du fromage Double crème qui présente un faible taux (3.26 ± 1.78 %), ces matières présentent des variabilités entre 12.65 à 18.23 % ($P > 0.05$). Cette différence serait principalement due à la différence de la teneur en eau. Le taux des AGL a été le plus élevé dans le fromage Halloum à cause d'une lipolyse plus importante dans le processus de fabrication, comparé aux autres variétés de fromage ; en effet, la température prolongée en présence de l'eau stimule la lipolyse et par la suite l'augmentation des AGL (Dib & Morris, 1991). Le taux d'azote soluble a été significativement plus élevé dans le fromage Double crème à cause de sa teneur élevée en azote protéique soluble provenant du lactosérum.

Caractérisation microbiologique des échantillons collectés

La Figure 1 présente, pour chaque catégorie de fromage analysé, les pourcentages des échantillons déclarés non acceptables pour les cinq types de bactéries et ceci dans les quatre régions visitées. Un même échantillon peut être considéré non acceptable pour une bactérie et acceptable pour une autre.

TABLEAU 3

Analyses Chimiques des 4 Principaux Fromages des Industries Laitières Visitées

Fromage	pH	Acidité (%)	Teneur en eau (%)	Protéines (% MS)	Mat. Grasse (% MS)	N.S. (%)	AGL (%)
Halloum	5.61 (0.56)	0.26 (0.00)	54 (1.12)	24.31 (0.73)	18.23 (0.82)	4.6 (0.11)	2.10 (0.03)
Baladi	6.45 (0.08)	0.18 (0.00)	70 (2.78)	18.87 (1.67)	12.65 (0.91)	2.8 (0.34)	0.87 (0.05)
Akkawi	5.89 (0.87)	0.21 (0.02)	62 (2.87)	21.63 (1.12)	14.34 (0.89)	2.75 (0.76)	1.34 (0.08)
Double crème	6.34 (0.30)	0.18 (0.01)	56 (1.56)	24.35 (0.78)	3.26 (1.78)	18.6 (2.34)	0.78 (0.00)

Les valeurs entre parenthèses représentent les écarts à la moyenne.
N.S. : Azote soluble ; AGL : Acides Gras Libres.

Les coliformes sont présents à des taux alarmants (72 à 86%) dans tous les fromages analysés et dans toutes les régions et industries visitées (Tableau 4 et Figure 1). Le nombre de colonies a atteint 1330 cfu.g⁻¹ dans le fromage Akkawi.

TABLEAU 4

Pourcentages des Echantillons de Fromage Déclarés non acceptables pour les Différentes Bactéries dans les Industries Laitières Visitées

	Coliformes totaux	<i>E. coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
Baladi	86	71	0	29	29
Akkawi	76	38	0	0	10
D. crème	83	33	0	6	17
Halloum	72	23	0	0	0

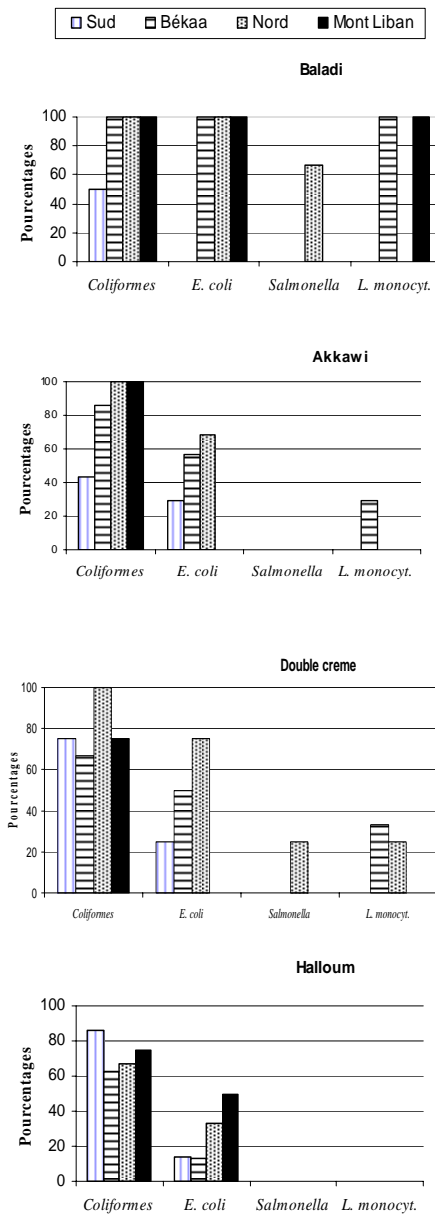


Figure 1. Pourcentages des échantillons de fromage Baladi, Akkawi, Double crème et Halloum déclarés non acceptables pour les différentes bactéries dans les industries visitées.

Dans des industries du sud, 20% seulement des échantillons de fromage collectés ont été déclarés non acceptables contre 67% dans le nord ($P < 0.05$); Le nombre de colonies a été respectivement de 4 et de 331 cfu.g⁻¹ dans les deux régions ($P < 0.05$). Les taux de contamination élevée dans le nord ($P < 0.05$), sont en majorité dus à une seule industrie qui présente des contaminations très importantes de tous ses fromages, atteignant 2000 cfu.g⁻¹ dans le fromage Akkawi. Le faible taux de contamination des fromages provenant des industries du sud serait expliqué par la relative récente industrie laitière de cette région, surtout en la comparant avec les industries de la Bekaa (vieilles industries et ont besoin de modernisation); de plus, la présence d'organismes non gouvernementaux et d'organismes internationaux aident les industries du sud à démarrer. Les industries du nord et celles du Mont Liban sont familiales et aucun contrôle hygiénique n'est effectué. La présence des coliformes en taux importants dans les fromages locaux serait simplement expliquée par une insuffisance hygiénique au cours du processus de fabrication.

Les fromages Baladi, Akkawi, Double crème et Halloum ont été dépourvus de *staphylococcus aureus* et aucun cas n'a été déclaré non acceptable, avec une légère contamination différente selon le produit ou la région. En effet, l'analyse de variance montre que deux industries dans la région du nord présentent une contamination de tous les fromages qu'ils produisent (Baladi, Akkawi et double crème), avec un nombre de colonies ne dépassant pas les normes mais significativement supérieur par rapport aux industries de la même région et celles des autres régions ($P < 0.001$). Le fromage Baladi est le plus contaminé (12 cfu.g⁻¹) par rapport aux autres types analysés ($P < 0.05$).

La *Salmonella* est rencontrée dans 23% des industries de la région du nord, contaminant 75% du fromage Baladi et 25% du Double crème. Les échantillons provenant des autres régions et industries ont été exempts de *Salmonella*.

En ce qui concerne la *Listeria*, 29% des fromages Baladi et 17% des Double crème ont été contaminés; ces taux sont significativement supérieurs par rapport à ceux des autres fromages ($P < 0.05$). Ce sont les industries de la Bekaa qui ont été les plus affectées (23% des industries). Dans cette région, la contamination a été de 100% pour le fromage Baladi, 29% pour Akkawi et 33% pour le Double crème. Le Halloum est le seul dépourvu de *Listeria* dans toutes les régions et industries visitées. La présence de *Listeria* dans 21% des industries est indicatrice de la mauvaise manipulation des produits, du manque d'hygiène ainsi que des mauvaises conditions environnementales de la production et de la réfrigération.

Le fromage Baladi a toujours été associé à des risques pathogènes, principalement dus à un manque d'hygiène de manipulation du fromage durant sa production. Akkawi souffre également de mauvaises pratiques d'hygiène et de production, les très mauvaises conditions environnementales ont permis le développement de *Listeria* dans ce type de fromage (10% des industries ont été affectées). Ceci est confirmé par la persistance de *Listeria* (17% des industries) dans le fromage Double crème malgré l'étape de chauffage (90° C pendant plus de 15 min) qu'il subit.

L'origine des contaminations des produits laitiers serait liée au manque d'hygiène le long du circuit de la production, depuis la gestion du troupeau, jusqu'à la conservation du produit final, en passant par la traite et la transformation du lait (mains sales, eau non potable, absence de désinfection des matériaux, ...). Les résultats obtenus ne sont pas étonnants, l'inspection sur place des industries a montré une violation de toutes les conditions

nécessaires pour la production d'un produit sain. La contamination post-pasteurisation ainsi que les conditions de manipulation, de production, de nettoyage des ustensiles et des équipements, le non contrôle de la température durant le transport et le stockage pourraient être à l'origine des taux élevés de bactéries pathogènes dans les produits laitiers (Araujo *et al.*, 2002).

CONCLUSION

A l'exception de 8% des industries visitées, les principes de base des Bonnes Pratiques d'Hygiène (GHP) et de Production (GMP) ne sont pas respectés. Les principales variétés de fromage libanais sont préparées par 73% des industries visitées suivant des méthodes simples et similaires. Le fromage Halloum est le seul dépourvu de *Listeria* et de *Salmonella* en raison du traitement thermique lors de sa fabrication et le fromage Baladi a été le plus contaminé par *Salmonella* et *Listeria*. La contamination post-pasteurisation serait à l'origine des taux élevés de bactéries pathogènes trouvées dans les fromages analysés. Il serait donc important aux industriels d'adopter une stratégie de prévention efficace, pour ainsi garantir la qualité des produits commercialisés. L'instauration d'un système de contrôle de qualité contribuerait à améliorer la qualité bactériologique de ces produits, très appréciés par le consommateur.

REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à remercier le CNRS libanais pour avoir financé ce travail.

REFERENCES

- AFNOR 1993. *Contrôle de qualité des produits alimentaires lait et produits laitiers. Analyses physico-chimiques*. 4^{ème} Edition.
- AOAC 1990. *Official Method of Analysis*. (15th Ed.), ed.: Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.
- Araujo, V.S., Pagliares, V.A., Queiroz, M.L.P., Freitas-Almeida, A.C. 2002. Occurrence of *staphylococcus* and enteropathogens in soft cheese commercialized in the city of Rio de Janeiro, Brazil. The society for applied microbiology. *J. Applied Microbiol.*, 92 : 1172-1177.
- Codex Alimentarius Commission (CAC) 1999. *Principles and guidelines for the conduct of microbiological risk assessment*. CAC/GL-30.
- Codex Alimentarius Commission (CAC) 2001. *Food Hygiene Basic Texts*. 2nd Edition.
- Decludt, B. 1996. Dangers liés à la présence d'*Escherichia coli* producteurs de vérotoxines dans les aliments. In : Lahellec, C. *Actualités en microbiologie des aliments. Proc. Colloque Société française de Microbiologie*, 21-22 Mars, Paris (France).
- Dib, H. 2000. Survey study of some food operating enterprises. In: *Quality and Production Technologies*, ESCWA, UN, New York.
- Dib, H., Morris, A. 1991. Lebanese filled cheese: chemical and physical changes during storage. *Tropical Sci. J.*, 31 : 387-396.
- Dib, H., Jawad, A., Debs, W. 1998. Fermented dairy products: kishk biotechnology and instantization. *EAAP*, 90 : 193-196.
- Doyle, M.P. 1989. *Foodborne bacterial pathogens*. New York , Marcel Dekker.

- Farber, J.M., Peterkin, P.I. 1991. *Listeria monocytogenes*, a foodborne pathogen. *Microbiol. Rev.*, 55 : 476-511.
- Kirk, S., Sawyer, R. 1991. *Pearson's composition and analysis of foods*. 9th edition Longman Scientific and Technical.
- LIBNOR 2003. Norme de mesure libanaise 2003. N° 495.
- Lubin, D. 1998. *Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine*. Ed.: FAO, alimentation et nutrition.
- Ministère de l'Agriculture 2004. *L'agriculture au Liban 2003*. FAO et Ministère de l'Agriculture, projet de recensement agricole, 129 pp.
- SigmaStat. Statistical software, version 2.0, 1992-1995, Jandel Corporation.