

50376
1994
205

N° d'Ordre: 1312

CCO gen 20.10.2390

50376
1994
205

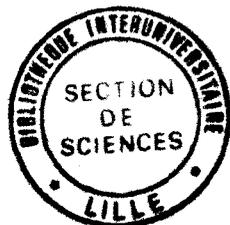
UNIVERSITÉ DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES DE LILLE

THESE

de

DOCTORAT DE L'UNIVERSITE
SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE

Spécialité: Microbiologie



Présentée par

Marguerite Ndayo-Wouafo

Sujet de la thèse

Qualités microbiologiques des glaces et des crèmes glacées
produites dans deux métropoles
du Cameroun: Douala et Yaoundé

Soutenue le 4 juillet 1994 devant la commission d'examen

Président

M. R. TAILLIEZ,

Professeur à l'Université de Lille I

Rapporteurs

M.J. BOHATIER,
M.T. NJINE,

Professeur à l'Université de Clermont-Ferrand I
Professeur à l'Université de Yaoundé I-Cameroun)

Examineurs

M.J.C. DERIEUX,
M.G. GARRIGUE,
M.J. KREMBEL,

Professeur à l'Université de Lille I
Professeur à l'Institut Pasteur de Paris
Professeur à l'Université de Lille I

AVANT- PROPOS

DEDICACES

IN MEMORIAM

**A mon Père Benoît TASSE
A ma Mère Odette LIENOU
A mon Oncle l'Abbé Barthélémy TCHUEM**

En hommage à votre sagesse et votre courage, bien que le Seigneur vous ai rappelé très tôt à lui, vous arrachant à notre affection, recevez du fond de votre sépulcre, le fruit de vos peines.

A mon mari Jean WOUAFO KAMGA

Tu es ma force et mon réconfort.
Reçois ici le témoignage de mon profond amour pour toi.

A mes enfants Gaëlle Valérie et Hugues Gerald

Quelle sera notre fierté, même outre tombe de voir chacun de vous dépasser ce que nous aurons fait durant notre existence.

A ma soeur Thérèse KAMGA SIMO

Pour le soutien moral et matériel, l'encadrement permanent , reçois ici ma profonde gratitude.

Au Docteur Innocent KAGO

Dont l'amitié, l'affection et l'aide m'ont été précieuses.
Trouve ici le signe de ma gratitude.

A mes frères

Pour les sacrifices et efforts consentis, ma reconnaissance sans dimension.

REMERCIEMENTS

Au Docteur Jacques MILLAN

Pour l'aide précieuse tant matérielle que morale grâce à laquelle ce travail a pu être mené à son terme.

Recevez, ma profonde gratitude et reconnaissance.

Au Professeur Guy Paul GARRIGUE

Vous avez initié ce projet de contrôle de qualité et m'avez encouragée dans cette voie. Vos conseils et aussi la générosité avec laquelle vous nous les avez prodigués nous ont profondément marqué, malgré vos multiples occupations, vous avez accepté de faire partie du Jury de cette Thèse. Trouvez ici l'expression de ma sincère gratitude.

Au Professeur Thomas NJINE

Je vous exprime mes sentiments de très vive et sincère reconnaissance, malgré vos multiples occupations et responsabilités, vous avez accepté de diriger cette thèse. Vos conseils bienveillants, vos encouragements incessants et votre soutien moral et matériel m'ont toujours été précieux.

Trouvez ici l'expression de ma très profonde gratitude et de mon respectueux attachement.

Au Professeur Roger TAILLIEZ

Qui malgré son emploi du temps très chargé a accepté de diriger cette thèse.

J'exprime ma profonde gratitude et ma sincère reconnaissance.

Au Professeur Michel CATTEAU

Vous m'avez initié à la recherche en Technologie alimentaire et m'avez encouragé dans cette voie. C'est ici l'occasion pour moi d'exprimer ma reconnaissance sans dimension.

Au Professeur LE MINOR

Dont l'équipe du Centre de Référence de l'Institut Pasteur de Paris a collaboré au sérotypage des Salmonella.
Recevez mes sincères remerciements

A la famille LEMASSON

Vous n'avez cessé de me soutenir - ma joie est la vôtre.

A Monsieur Henri ESCAFFRE.

Votre disponibilité, votre collaboration et votre dévouement ont permis la mise en page de ce document.
Trouvez ici l'expression de ma profonde gratitude.

Au Docteur Julienne LOHOUE

Pour l'identification des souches de levures et pour l'intérêt particulier qu'elle a toujours porté à mes travaux de recherche.
Qu'elle trouve ici le signe de ma gratitude et de ma reconnaissance.

A Mesdames Bernadette EBOGO, Marie Laure EFFA, Raymond BIOUMLA, votre habileté et dévouement ont facilité la rédaction de ce travail.
Mes sincères remerciements

A Mesdames Marthe EBOUBOU et Caroline KEMADJOU.

Par votre assistance et constante disponibilité, vous avez contribué à la culture et à l'identification des micro-organismes.

Enfin, je tiens à associer tout le **Personnel de Bactériologie du Centre Pasteur de Yaoundé** qui a créé une ambiance amicale et a rendu la réalisation de ce travail agréable.

A tous mes amis et à tous ceux qui m'ont aidé au cours de mes études et dans la réalisation de ce travail.

RESUME

L'étude des qualités hygiéniques des glaces et des crèmes glacées commercialisées dans les deux principales métropoles du Cameroun (Douala et Yaoundé) a porté sur 300 échantillons de ces produits, issus de fabrication semi-industrielle ou artisanale. Les analyses bactériologiques ont été réalisées au moyen de la technique des membranes filtrantes, de celle de la double couche ou de l'étalement sur divers milieux gélosés. Ces analyses révèlent la présence des germes de contamination fécale (coliformes thermotolérants et streptocoques fécaux); dans un grand nombre de ces produits, dont certains renferment par ailleurs des staphylocoques pathogènes et même des salmonelles.

L'eau de fabrication et le non respect des règles d'hygiène dans les établissements de production sont les principales sources de contamination de ces produits

Des recommandations pour le suivi des chaînes de fabrication et des circuits de commercialisation sont proposées: elles devraient contribuer à l'établissement de normes à prendre au niveau de la Santé Publique.

SUMMARY

The study of the sanitary quality of ice cream sold in the two main towns in Cameroon (Douala and Yaoundé) was carried out about 300 samples of semi-industrial or home made production. These samples were analysed for their bacterial content, using membranes filtration, plate count and spreading techniques. The results show that many of them are contaminated with bacteria of faecal origin (thermoresistant coliforms and faecal streptococci). Some also contain pathogenic staphylococcus and even Salmonella.

The use of non potable water and the disrespect of the hygienic rules during the production are the main causes of contamination.

Recommendations are made for a follow up of the manufacturing and commercial channels. They are mend to contribute to the definition of the norms by the Public Health Authority.

Première partie :**INTRODUCTION**

1. Buts des contrôles microbiologiques des aliments	1
2. Flore microbienne indésirable des aliments	2
2.1. Flore d'origine endogène	2
2.2. Flore d'origine exogène	2
3. Origine des contaminations	3
4. Contrôle microbiologique des glaces et des crèmes glacées	4
5. Isolement et numération des micro-organismes d'altération des aliments	5
5.1. Prélèvement	6
5.2. Transport et conservation des échantillons	6
5.3. La pesée	6
5.4. Méthodes classiques de détection et de dénombrement des micro-organismes	6
5.4.1. Détection et dénombrement par microscopie	6
5.4.1.1. La méthode de Gram	7
5.4.1.2. La méthode de Breed	7
5.4.1.3. Coloration spécifique, épifluorescence	7
5.4.2. Dénombrement des micro-organismes vivants	8
5.4.2.1. Sur milieu solide	8
5.4.2.1.1. Numération en milieu gélosé par technique standard ("Plate count")	8
5.4.2.1.2. Technique de la double couche	8
5.4.2.1.3. Dénombrement en surface	8
5.4.2.1.4. Dénombrement après culture sur membrane	9
5.4.2.2. Sur milieu liquide	9
5.4.2.2.1. Technique de numération en milieu liquide	9
5.4.2.2.2. Principe de la méthode NPP (nombre le plus probable)	10
5.4.2.2.3. Technique standard	10
5.5. Méthodes rapides de dénombrement	10
5.5.1. La Turbidimétrie	11
5.5.2. Méthode immuno-enzymatique appliquée à la recherche de <i>Listeria</i> dans les produits laitiers	11
5.5.3. Dosage de coenzymes par réaction bioluminescente du système ATP -luciférine -luciférase	11
5.5.4. Dénombrement microbien par mesure d'impédance	12
5.5.5. Méthodes radiométriques	12
5.5.5.1. Mesure au $^{14}\text{CO}_2$	12
5.5.5.2. Mesure par absorption ou adsorption de composés marqués.	12
6. Buts du travail	14

Deuxième partie :

MATERIELS ET METHODES

1. Résumé des procédés de fabrication des glaces et des crèmes glacées	15
1.1. Généralités	15
1.2. Procédés de fabrication des glaces et des crèmes glacées au Cameroun	20
1.2.1. Procédé de fabrication artisanale	23
2. METHODOLOGIE	25
2.1. La technique des membranes filtrantes	28
2.2. La technique de la double couche	28
2.3. La technique par étalement en boîte de pétri	29
2.4. La technique de l'écouvillonnage	29

Troisième partie :

RESULTATS ET COMMENTAIRES

1. ETUDE REALISEE A L'USINE DE DOUALA	31
1.1. Matières premières	31
1.1.1. Eau	31
1.1.2. Lait et autres ingrédients	31
1.1.2.1. Le lait	31
1.1.2.1. Le sucre	33
1.1.2.1. Les parfums	33
1.1.2.1. Les œufs	33
1.2. Matériels et équipements de la chaîne de fabrication	34
1.3. Produits finis	35
1.3.1. Etude qualitative	35
1.3.2. Etude quantitative	38
1.4. Discussion	44
2. ETUDE REALISEE A L'USINE DE YAOUNDE	45
2.1. Matières premières	45
2.1.1. Eau	45
2.1.2. Lait et autres ingrédients	47
2.1.2.1. Le lait	47
2.1.2.1. Le sucre	51
2.1.2.1. Les parfums	51
2.1.2.1. Les œufs	51
2.2. Matériels et équipements de la chaîne de fabrication	53
2.3. Produits finis	55
2.3.1. Etude qualitative	55
2.3.2. Etude quantitative	56
2.3.2.1. Germes mésophiles aérobies	61
2.3.2.2. Coliformes totaux	63
2.3.2.3. Coliformes thermotolérants	63
2.3.2.4. Streptocoques fécaux	63
2.3.2.5. Staphylocoques pathogènes	64
3. Discussion	

3.1. De l'eau de fabrication	66
3.2. Du lait et des autres ingrédients	67
3.3. Du matériels et des équipements utilisés dans la fabrication des glaces	67
3.4. De l'enceinte de l'usine non compartimentée	67
3.5. Du personnel	67
4. ETUDE REALISEE SUR LES PRODUITS FINIS DE FABRICATION ARTISANALE	68
4.1. Etude qualitative	68
4.2. Etude quantitative	68
4.2.1. Germes mésophiles aérobies	74
4.2.2. Coliformes totaux	76
4.2.3. Coliformes thermotolérants	76
4.2.4. Streptocoques fécaux	79
4.2.5. Staphylocoques pathogènes	79
5. ETUDE SUR LES GLACES ET LES CREMES GLACEES D'IMPORTATION	79
5.1. Etude qualitative	79
5.2. Etude quantitative	81
5.2.1. Germes mésophiles aérobies	82
5.2.2. Coliformes totaux	82

Quatrième partie :

DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSION

1. DISCUSSION GENERALE	84
1.1. Flore mésophile aérobie totale	85
1.2. Coliformes totaux	86
1.3. Salmonella-Shigella	87
1.3.1. Salmonella	87
1.3.2. Shigella	90
1.4. Coliformes thermotolérants	90
1.5. Streptocoques fécaux	92
1.6. Staphylocoques pathogènes	92
1.7. Les anaérobies sulfito-réducteurs : les germes Clostridium perfringens et Bacillus cereus	94
1.8. Levures et moisissures	96
1.9. Problèmes rencontrés	97
1.9.1. Le problème de l'eau	97
1.9.2. Le matériel	98
1.9.3. La pasteurisation et l'hygiène	98
1.10. Recommandations	99
2. CONCLUSION	100

BIBLIOGRAPHIE	105
----------------------	------------

ANNEXES

Annexe 1	110
Annexe 2	111

Première partie :

INTRODUCTION

La fabrication des produits laitiers, glaces et crèmes glacées notamment, a pris un essor considérable dans les deux métropoles du Cameroun (Douala et Yaoundé) ces dix dernières années. Ces produits fabriqués de façon semi-industrielle ou artisanale à partir du lait en poudre importé sont généralement commercialisés à bas prix dans les "alimentations" et surtout dans les établissements scolaires, qui constituent l'essentiel des points de vente. La plupart des producteurs ignorent le plus souvent les risques d'intoxications alimentaires que pourraient engendrer leurs produits; en effet, le contrôle de qualité des matières premières lors de la fabrication, et des produits finis mis sur le marché, est presque inexistant, bien que la qualité (avec l'innovation) soit considérée comme l'un des concepts essentiels à la réussite d'une industrie et à la conquête des marchés intérieurs et extérieurs, (Multon, 1985).

Les contrôles chimiques, microbiologiques et organoleptiques en industrie alimentaire correspondent respectivement aux qualités nutritionnelles, hygiéniques, organoleptiques (Kramer et Twigg, 1970), et sont d'une importance capitale dans le succès d'une industrie alimentaire.

1. Buts des contrôles microbiologiques des aliments.

Le premier objectif des contrôles microbiologiques est d'assurer une bonne qualité hygiénique et une bonne qualité marchande du produit fabriqué (Bourgeois et Cleret, 1980; Bouix et Leveau, 1984).

Le second objectif du contrôle microbiologique est de favoriser un bon rendement, en permettant de minimiser les pertes dues aux mauvaises conditions de fabrication et d'avoir le moins possible des produits non conformes (Bouix et Leveau, 1984). Bourgeois et Cleret, (1980), pensent qu'il faut envisager le contrôle microbiologique comme une partie d'un système de régulation, sa fonction étant de saisir le plus tôt possible toute tendance défavorable du système de production de façon à permettre une réaction préventive destinée à empêcher toute évolution défavorable de la qualité.

Bouix et Leveau (1984), Mescle et Zucca (1988), proposent trois niveaux de contrôle microbiologique:

- au premier niveau se situent les contrôles préventifs effectués sur les matières premières et les différents adjuvants;

- les contrôles en cours de fabrication occupent le second niveau; ils comprennent les contrôles sur le produit lui-même ainsi que sur les facteurs pouvant avoir une influence sur la qualité du produit (hygiène du matériel, des locaux et du personnel);

- le troisième niveau, enfin, est constitué par le contrôle sur les produits finis; ceux-ci sanctionnent la fabrication en déterminant la qualité microbiologique du produit fini et sa conformité aux normes établies par l'usine.

2. Flore microbienne indésirable des aliments

Les paramètres à contrôler sont généralement les micro-organismes responsables d'une altération de la qualité hygiénique (germes témoins de contamination fécale, germes pathogènes de contamination des produits manipulés) et les micro-organismes responsables d'une altération de la qualité marchande ou d'une perte de rendement qui doivent être recherchés du début de la fabrication (matières premières) jusqu'au produit fini.

D'après Leclerc et Mossel, (1989), les aliments peuvent être les agents de transmission de divers micro-organismes infectieux ou de leurs métabolites susceptibles de provoquer des intoxications chez l'homme. Ces auteurs regroupent ces micro-organismes en fonction de leur origine la plus fréquente. Ces derniers sont soit d'origine endogène, déjà présents dans les aliments avant leur préparation, soit d'origine exogène, contaminant les aliments au cours de la préparation, du transport, de l'industrialisation ou de la conservation, etc...

2. 1. Flore d'origine endogène.

Le premier groupe comprend les micro-organismes présents dans les aliments d'origine animale et les agents des anthroozoonoses, maladies transmises des animaux à l'homme, le plus souvent par voie digestive (par exemple le lait peut jouer un rôle dans la transmission de la tuberculose, de la brucellose, de la listériose ou de la salmonellose). Les animaux malades sont en principe éliminés du circuit alimentaire par les bons soins des services vétérinaires. Les animaux sains sont néanmoins souvent porteurs asymptomatiques de micro-organismes pathogènes. En ce qui concerne les aliments d'origine végétale, les agents phytopathogènes ne sont jamais pathogènes pour l'homme.

2. 2. Flore d'origine exogène.

Le second groupe est constitué par des micro-organismes d'origine exogène, c'est-à-dire contaminant l'aliment à partir de l'environnement au cours de sa préparation, de son transport, de sa conservation ou de son industrialisation...

Les plus importants d'entre eux sont les agents des infections et intoxications alimentaires d'origine humaine ou animale, les germes des eaux de surface et des sols contaminés par les déjections des animaux et de l'homme. Les

intoxinations alimentaires se produisent à la suite de l'ingestion de toxines préformées dans les aliments par certaines bactéries (*Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*) et les moisissures.

La flore exogène des aliments est aussi constituée par des micro-organismes saprophytes plutôt d'origine végétale ou hydrique qui sont une cause importante de leur altération.

3. Origine des contaminations.

Mescle et Zucca, (1988), remarquent que la contamination primaire des matières premières se fait par l'eau, le sol, l'air, les poussières et par le produit lui-même. Lorsqu'elles sont transformées, les matières premières subissent de nouvelles contaminations propres au contexte de l'usine ou du lieu de fabrication (ambiance, surfaces, eau, matériels, personnel) et aux processus technologiques qui conduisent aux produits finis.

La qualité microbiologique de l'eau a une très grande influence sur la contamination des produits alimentaires, (Mescle et Zucca, 1988). En effet, l'eau contient en suspension des micro-organismes très divers. Les germes hydriques sont surtout des bactéries provenant du sol (*Micrococcus*, *Alcaligenes*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Chromobacterium*, *Moraxella*,...) ou des matières fécales de l'homme et des animaux (Entérobactéries, Entérocoques). Ces bactéries sont parfois pathogènes pour l'homme (*Salmonella*, *Shigella*) ou sont souvent responsables d'altération des aliments. L'eau est la principale voie de dissémination des micro-organismes fécaux, (Leclerc et Mossel, 1989). Lorsqu'aucun traitement de l'eau n'est effectué, comme c'est le cas dans la plupart des pays en voie de développement, l'eau apparaît comme la principale cause des maladies entériques.

L'eau et les poussières contiennent un très grand nombre de cellules microbiennes en suspension, telles que les bactéries, les moisissures et plus rarement les levures (Mescle et Zucca, 1988).

Les produits les plus exposés sont les fruits et les légumes, le lait, et tous les produits élaborés qui sont en contact direct avec l'air.

Le lait et les produits laitiers sont des milieux très favorables au développement des micro-organismes (Plusquellec, 1980). Ceux-ci jouent un rôle important dans les produits pour plusieurs raisons: ils peuvent être soit utiles pour la fabrication de certains produits laitiers (*Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* pour le yaourt), soit indésirables à l'exemple des germes d'altération, des germes pathogènes ou des germes témoins de contamination fécale (Plusquellec, 1980; Saddik et al, 1985; Larpent, 1988). Les germes témoins de contamination fécale sont des micro-organismes vivant normalement dans l'intestin de l'homme et des animaux à sang chaud et dont la présence dans le milieu extérieur traduit une contamination fécale et corrélativement un risque de présence de germes pathogènes: ce sont les coliformes fécaux, dont *Escherichia coli* et les entérobactéries dans leur ensemble, mais aussi les streptocoques fécaux et les *Clostridium* sulfite réducteurs.

La recherche de ces indicateurs est un moyen très employé pour contrôler la qualité des produits alimentaires (Catsaras et Bourgeois, 1980; Leclerc et Mossel, 1989).

Selon Larpent, (1988) , les bactéries couramment rencontrées dans le lait sont constituées de bacilles et de cocci aérobies (*Pseudomonas* pigmentés ou non, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Brucella*), des bacilles anaérobies facultatifs: *Entérobacteriaceae*: (*Escherichia*, *Edwardsiella*, *Erwinia*, *Citrobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Serratia*, *Yersinia*) et *Vibrionaceae* (*Vibrio*, *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Photobacterium*); des cocci gram +, (*Micrococcaceae*, *Streptococcaceae*), des bacilles sporogènes (*Clostridium*, *Bacillus*). Certaines levures et moisissures sont également associées au lait et aux produits laitiers (genres *Saccharomyces*, *Candida*, *Geotrichum*, *Rhizopus*...).

Les poudres de lait peuvent héberger des microcoques, des bactéries sporulées thermophiles (Larpent, 1988). Les *Salmonella* et les *Staphylococcus* peuvent y survivre après un traitement technologique.

Les poudres de lait sec entier ou écrémé sont utilisées après reconstitution dans les pays chauds où la production de lait frais est insuffisante. Ces poudres de lait servent notamment dans les fabrications des glaces et des crèmes glacées.

Les glaces et les crèmes glacées constituent elles aussi des milieux favorables à la croissance ou à la survie des micro-organismes (Plusquellec, 1980). Les ingrédients entrant dans leur fabrication (eau, lait en poudre, sucre, crème, fruits, colorants...) et les conditions de manipulation peuvent contribuer à polluer le produit fini. L'apport de germes pendant la fabrication peut être aussi attribué à divers facteurs: le matériel, les locaux, le personnel et l'air ambiant (Plusquellec et Leveau, 1980).

4. Contrôle microbiologique des glaces et des crèmes glacées.

Plusieurs travaux ont été publiés sur l'étude microbiologique des glaces et des crèmes glacées:

Delia et Mauro, 1980, ayant analysé 50 glaces de fabrication artisanale, ont constaté que 24% de ces produits présentaient un ou plusieurs paramètres non conformes à l'arrêté ministériel italien du 11 octobre 1978, arrêté fixant les critères microbiologiques relatifs à ces produits:

- Flore totale: 100 000 UFC/g de produit,
- Coliformes: 120 UFC/g de produit,
- *Staphylococcus aureus* : 12 UFC/g de produit,
- Absence de *Salmonella* dans 25 g de produit.

Mahasneh et Hashwa, 1981, ont examiné 37 échantillons de glaces dans les restaurants, les supermarchés et chez les détaillants de la ville d'Amman (Jordanie), afin d'y déterminer les nombres et les types de bactéries présents. Ils ont constaté que les coliformes, y compris *Escherichia coli*, les staphylocoques, les germes *Shigella* et *Salmonella*, étaient présents dans 32 échantillons (soit 86%), en nombres supérieurs aux limites internationales acceptables. (critères de 1978)

Dans le but de déterminer la qualité bactériologique des glaces de fabrications semi-industrielle et artisanale vendues à Kuala Lumpur en Malaisie, Lim et al, 1985, ont analysé 200 échantillons. Leur étude a révélé la présence de germes en nombres supérieurs aux normes standards autorisées. Cette flore indésirable était composée de coliformes dont *Escherichia coli*. 15% des échantillons étaient porteurs de *Staphylococcus aureus*, et les *Salmonella* étaient présents dans 1,5 % des produits analysés.

Andriamanganatiana-Rason et al., 1987, ont étudié 100 échantillons de glaces et de crèmes glacées de fabrication semi-industrielle ou artisanale prélevés en différents points de la ville d'Antananarivo (Madagascar). Ils ont montré que 79% de ces produits étaient impropres à la consommation. (critères non conformes aux critères microbiologiques français (A. Noël) de 21 décembre 1979.)

Etudiant la qualité hygiénique de 50 glaces et crèmes glacées des productions industrielles et semi-industrielles de San Luis (Argentine), De Centorbi et al., 1989, constatent que tous les échantillons renferment des coliformes en nombres supérieurs aux normes légales; il en est de même pour 14% des échantillons porteurs de *Staphylococcus aureus* et de 4% des échantillons hébergeant des *Yersinia enterocolitica*.

Marante et al., 1989, ont effectué le contrôle microbiologique de 70 glaces de fabrication artisanale dans la ville de Santa Cruz de Tenerife (Espagne): 4 échantillons seulement se sont révélés être conformes aux normes de la législation espagnole. (germes aérobies : $\leq 100\,000$ /ml, coliformes : absence dans 0,1 ml.) Ces critères sont celles du décret 340 (187) du 30-1-1987

5. Isolement et numération des micro-organismes d'altération des aliments.

Trois groupes de micro-organismes sont habituellement recherchés lors d'une étude des qualités microbiologiques des aliments:

- les germes capables d'altérer la qualité marchande
- les germes potentiellement pathogènes
- les germes témoins de contamination fécale

Avant de considérer la recherche de ces divers types de germes, il convient d'envisager d'abord :

- le prélèvement
- le transport et la conservation des échantillons.

5. 1. Prélèvement

Les échantillons sont prélevés dans leurs unités de conditionnement et les produits laissés dans leurs emballages d'origine jusqu'au laboratoire, excepté pour certaines matières premières qui se présentent souvent en vrac (lait, ingrédients).

5. 2. Transport et conservation des échantillons

Du prélèvement jusqu'au traitement de l'échantillon, tout est mis en oeuvre pour stabiliser qualitativement et quantitativement la flore présente au moment du prélèvement.

Certaines précautions permettent de tendre vers cet objectif :

- par un transport rapide et un stockage de courte durée
- par la conservation à basse température (entre 0 et 5°C) des échantillons, ce qui implique le transport dans un caisson isotherme avec de la glace carbonique et une congélation rapide de l'aliment.

L'effet du froid pouvant engendrer un stress pour les bactéries d'exigences nutritives particulières, certains auteurs préconisent qu'il faut se prémunir contre ce risque d'erreur en laissant la suspension mère séjourner à température ambiante pendant une demi-heure ou une heure avant l'analyse.

5. 3. La pesée

10 ml de chaque échantillon sont ensuite pesés et 90 ml de liquide de dilution (tryptone sel ou eau peptonée tamponnée) ajoutés pour obtenir la suspension mère. Cette suspension mère sera utilisée pour effectuer les dilutions décimales.

Pour la recherche des salmonelles, la préparation de la suspension mère peut être effectuée à partir de 25 g de produit et 125 ml de diluant (eau peptonée tamponnée). Cette préparation est mise directement à incuber pour l'étape de pré-enrichissement.

5. 4. Méthodes classiques de détection et de dénombrement des micro-organismes.

Ces méthodes ont été décrites par certains auteurs notamment Bourgeois et Plusquellec, (1980).

La détection et la numération des micro-organismes totaux se font, soit par des méthodes physiques telles que la microscopie, soit par des méthodes qui tiennent compte du développement des germes.

5 .4.1 Détection et dénombrement par microscopie

Le dénombrement direct par microscopie donne une idée de l'identité des souches par observation de la forme des micro-organismes. Les bactéries sont rendues plus visibles au microscope par l'utilisation d'un colorant.

5.4. 1. 1. La méthode de Gram

Elle est difficilement applicable lorsque les bactéries se trouvent dans un milieu complexe comme un aliment.

5. 4. 1. 2. La méthode de Breed

On utilise des lames comportant une zone délimitée de 1 cm² sur laquelle on dépose 0,01 ml du liquide à examiner. Après séchage et coloration au bleu de méthylène ou par la méthode de Gram, les micro-organismes sont comptés dans 30 à 50 champs microscopiques. Le nombre de germes par ml peut être ensuite calculé.

car c'est une technique très rapide

Cette technique peu sensible a été appliquée au contrôle laitier et la corrélation des résultats avec ceux de la méthode d'étalement sur gélose est généralement bonne. Elle conserve son intérêt pour des contrôles répétés par exemple sur chaîne de fabrication.

5. 4. 1. 3. Coloration spécifique, épifluorescence

On peut utiliser un colorant plus spécifique des cellules vivantes. Le principe de la fluorescence consiste à utiliser une substance possédant les propriétés d'excitabilité d'un fluorochrome (l'acridine orange par exemple) et capable par ailleurs de se fixer avec une bonne affinité et une sélectivité suffisante sur un composant des micro-organismes recherchés. L'acridine orange est le colorant le plus utilisé pour l'épi fluorescence. En se fixant sur les acides nucléiques, il confère une coloration rouge orangé aux cellules vivantes présentant une synthèse protéique active grâce à l'ARN qui est en plus grande quantité que l'ADN; tandis que sur les cellules mortes, l'ARN se dégrade rapidement alors que l'ADN persiste. Les cellules apparaissent donc colorées en vert.

Le dénombrement visuel se fait par simple utilisation d'un microscope équipé d'épifluorescence. Ce dénombrement est automatisable en faisant recours à un analyseur d'images.

La principale difficulté de la méthode consiste à mettre au point un protocole qui s'adapte à des échantillons de toute nature.

Lors de l'observation microscopique, il peut subsister des déchets alimentaires susceptibles de prendre le colorant et qui risqueraient d'induire des erreurs dans le dénombrement. Pour chaque type d'aliment, une série de traitements comprenant par exemple des filtrations sont envisagées. Après filtration, la membrane elle-même est colorée à l'acridine orange, rincée à l'eau et séchée.

La durée d'une analyse varie suivant le prétraitement et le nombre de champs observés entre 20 et 45 minutes.

5 . 4. 2.- Dénombrement des micro-organismes viables.

Les techniques permettant la numération font appel au développement des colonies de micro-organismes, soit sur un milieu solide, soit en milieu liquide.

5 .4. 2.1. Sur milieu solide.

5 .4 .2. 1 .1. Numération en milieu gélosé par technique standard ("Plate Count").

Sur les boîtes marquées est déposé stérilement 1 ml de chaque dilution. 15 ml d'un tube de milieu gélosé maintenu en suspension à 45°C au bain-marie sont versés dans chaque boîte.

Le mélange se fait en suivant une technique standardisée. La température 30, 37, 44°C et la durée de l'incubation 24, 48, 72 heures varient selon le produit à étudier et le type de germes.

Pour interpréter les résultats, sont retenues les boîtes contenant de 30 à 300 colonies.

5. 4. 2. 1. 2. Technique de la double couche

Pour éviter le développement des colonies en surface, est appliquée la technique de la double couche de gélose. Sur la première couche de la méthode standard est coulée après refroidissement une seconde couche de gélose.

5. 4. 2. 1. 3. Dénombrement en surface

Dans certains cas, les numérations en surface sont pratiquées sur la boîte préalablement coulée et soigneusement séchée. 0,1 ml du produit à analyser y est déposé. Cet inoculum est ensuite étalé sur toute la surface à l'aide d'un étaleur en verre. Après incubation, sont comptées les colonies qui se sont développées en surface.

Gilchrist et al (1973) décrit par Bourgeois et Plusquellec (1980), ont proposé une méthode d'étalement en spirale ("spirale plate count method"). Dans ce système, une machine dépose un petit volume d'échantillon à la surface d'une plaque d'agar en rotation. Le canal distributeur s'écarte progressivement du centre vers la périphérie et dépose ainsi les micro-organismes suivant une spirale.

L'espacement progressif des cellules à mesure qu'on s'écarte du centre joue le rôle d'une dilution : même si les colonies qui en dérivent sont confluentes au départ de la spirale, elles se séparent ensuite, plus ou moins loin du centre suivant la concentration microbienne dans l'échantillon. Le comptage des colonies s'effectue à l'oeil nu ou à l'aide d'un compteur électronique à laser qui dénombre les colonies suivant la spirale à partir de la périphérie.

5. 4. 2. 1. 4 *Dénombrement après culture sur membrane*

Pour bénéficier de l'effet de concentration des micro-organismes que permettent les membranes filtrantes, il est possible d'obtenir le développement des colonies sur la membrane elle-même en la plaçant en incubateur sur un milieu gélosé approprié.

Ce procédé permet de réduire ou de supprimer la dilution et d'évaluer directement le nombre de cellules contenues dans l'échantillon. On utilise couramment des membranes de 47 mm de diamètre et de 0,45 µm de porosité. Autre possibilité offerte par les membranes est la détection microscopique précoce directement sur la membrane après une brève incubation permettant le développement de micro colonies.

Ces méthodes de numération en ou sur milieu solide sont d'une mise en oeuvre facile mais les résultats ne sont pas d'une très bonne reproductibilité. Elles reposent en effet sur une sorte de postulat qui veut qu'une colonie se développe à partir d'un germe et cela n'est pas toujours vrai.

Les bactéries ne sont pas nécessairement isolées et réparties de façon homogène, elles forment de petits amas et le développement des colonies se fait à partir de ces amas appelés "unités viables" d'où l'expression des résultats en nombre d'unités formant colonies.

5. 4. 2. 2. *Sur milieu liquide*

5. 4. 2. 2. 1. *Technique de numération en milieu liquide -*

Un échantillon du produit à analyser ou un certain volume de l'une des dilutions est introduit dans un tube de milieu de culture liquide. Puis après incubation appropriée, le tube est examiné; s'il est trouble, c'est qu'un contaminant s'est développé; un contaminant dont la spécificité du milieu permettrait la croissance.

Cette technique présente deux avantages sur la technique de dénombrement sur plaques :

- elle permet d'analyser des quantités importantes de produits alimentaires solides alors que dans une plaque de gélose, ne peut être inclus plus d'un ml de suspension mère.

- elle est plus favorable à la multiplication des micro-organismes que la culture sur support solide, la diffusion des nutriments du milieu vers les cellules étant favorisée par leur dispersion au sein du liquide.

5. 4. 2. 2. 2. Principe de la méthode NPP (nombre le plus probable).

Cette technique est basée sur l'hypothèse d'une distribution statistiquement normale des bactéries ou autres micro-organismes dans un milieu liquide, c'est-à-dire que l'on s'attend à ce que des échantillons de même taille et de même origine contiennent le même nombre de micro-organismes en moyenne. Certains échantillons peuvent s'en écarter notablement en plus ou en moins, mais ce nombre moyen est le nombre le plus probable.

5. 4. 2. 2. 3. Technique Standard

Le développement des germes est apprécié par le trouble du milieu après incubation ou par virage d'un indicateur coloré traduisant une acidification ou encore par la production de gaz. Pour ce dernier cas, on emploie des tubes munis d'une cloche de Durham, c'est-à-dire un petit tube de verre contenant le milieu et qui sert à recueillir le gaz éventuellement produit.

Ces méthodes classiques de dénombrement sont des méthodes qui demandent une grande quantité de matériel, une main d'oeuvre importante et les résultats ne sont habituellement obtenus qu'après un temps d'incubation variant de 24 heures à plusieurs jours.

Or le contrôle microbiologique doit répondre aux exigences suivantes :

- rapidité de réponse indispensable pour qu'on puisse remédier en temps utile à toute anomalie de fabrication et éviter de mettre en circulation des produits non conformes aux normes réglementaires

- faible coût nécessaire pour permettre par la réalisation d'analyses nombreuses, une surveillance étroite de la fabrication, sans alourdissement excessif des charges.

5. 5. Méthodes rapides de dénombrement

Ces techniques ont été détaillées par Bourgeois et Mafart (1980).

Ces auteurs préconisent qu'il existe des contrôles rapides permettant de faire des corrections sur le lot analysé lui-même et lorsqu'ils sont réalisés sur le produit fini, de ne le mettre en circulation que si sa qualité est conforme aux normes standards.

La population microbienne est évaluée en mesurant à l'aide d'un détecteur sensible un signal lié à la présence et l'activité des micro-organismes le plus souvent une activité enzymatique ou la concentration de la molécule (coenzyme, métabolite) ou encore une modification du milieu, variation de pH, de potentiel d'oxydoréduction, d'impédance, production de chaleur, liée à cette activité.

5. 5. 1. La turbidimétrie

Le principe de la turbidimétrie est le suivant: si un pinceau lumineux traverse une suspension microbienne, une partie de la lumière incidente est diffusée par les cellules, si bien qu'à la sortie on distingue un pinceau central affaibli et un cône de diffusion; la réduction d'intensité du pinceau central à la traversée de la suspension, qui peut être mesurée au photomètre, dépend de divers facteurs et en particulier de la concentration microbienne. Si on se place dans des conditions standard, la mesure de la réduction de l'intensité lumineuse permet donc grâce à une courbe d'étalonnage, d'évaluer la concentration cellulaire. Ce procédé est utilisé pour étudier la croissance des micro-organismes.

5. 5. 2. Méthode immunoenzymatique appliquée à la recherche de *Listeria* dans les produits laitiers.

Alors que les méthodes classiques demandent 7 jours, une méthode récente alliant l'immunologie et l'enzymologie (méthode Sandwich) propose la détection d'une *Listeria* dans 25g d'aliment et ce en 48 heures. L'échantillon passe par 2 phases successives d'enrichissement de 24 heures, puis chauffage à 100°C pendant 20 minutes. Est répartie la suspension antigénique dans une plaque de micro titration sensibilisée avec un anticorps monoclonal AC1, anti-*Listeria*. Après addition du 2e anticorps 2 couplé à la peroxydase, la réaction est ensuite colorée.

5. 5. 3. Dosage de coenzymes par réaction bioluminescente du système ATP- luciférine - luciférase

Le dosage de l'ATP par la réaction bioluminescente du système ATP-luciférine - luciférase est plus intéressante. L'ATP est un composé présent dans toutes les cellules vivantes, en particulier les cellules bactériennes. Or, la réaction bioluminescente du ver luisant qui met en oeuvre un pigment, la luciférine et un enzyme, la luciférase, permet de doser l'ATP avec une haute sensibilité. Si dans un mélange luciférase, luciférine, Mg^{2+} , on injecte de l'ATP, l'émission lumineuse s'amorce immédiatement, passe par un maximum au bout de quelques secondes, puis décroît jusqu'à s'annuler au bout d'une minute environ.

Pour l'analyse des produits alimentaires, la préparation de l'échantillon pose certains problèmes. Lorsque les micro-organismes recherchés sont le seul matériel vivant du produit analysé, ils en contiennent tout l'ATP et la préparation est simple; elle consiste à recueillir les cellules sur un filtre et à en extraire l'ATP par un agent approprié. Le procédé est donc utilisable pour évaluer la contamination globale de l'eau par exemple.

En revanche, quand il s'agit de détecter des micro-organismes dans un produit contenant du matériel cellulaire, le produit contient alors son ATP intrinsèque et l'ATP microbien. C'est une source de difficultés, auxquelles un procédé d'extraction approprié, permet théoriquement de remédier, mais la bibliographie se fait largement l'écho des difficultés rencontrées avec des produits tels que le lait ou la viande.

5. 5. 4. *Dénombrement microbien par mesure d'impédance*

L'impédancemétrie est une mesure physique rapide qui permet de mesurer la résultante de deux types de modifications physico-chimiques d'une culture microbienne au cours de la croissance : la transformation du milieu et la multiplication cellulaire.

L'échantillon à analyser est introduit dans une cellule contenant un milieu de culture approprié dans lequel plongent deux électrodes; le passage périodique d'un courant alternatif permet de mesurer l'impédance et d'enregistrer ses variations par rapport à une cellule témoin remplie de milieu stérile; la diminution d'impédance dans la cellule de mesure y révèle la présence et la croissance des micro-organismes. Le temps nécessaire pour obtenir un signal perceptible est en relation avec le nombre de micro-organismes présents.

Certains appareils disponibles actuellement semblent allier de bonnes performances à une bonne adaptation aux besoins du contrôle des produits alimentaires: possibilité d'utiliser des échantillons de taille variable, possibilité de traiter de nombreux échantillons simultanément.

5. 5. 5. *Méthodes radiométriques*

Leur principe commun consiste à évaluer l'intensité d'une activité microbienne par une mesure radiométrique. Certaines techniques de mesure de cette radioactivité sont extrêmement sensibles. Deux types de méthodes ont été proposés: il s'agit de la production de CO_2 résultant du métabolisme énergétique, respiration ou fermentation et, dans l'autre cas, d'absorption de substances d'intérêt métabolique.

5. 5. 5. 1. *Mesure au $^{14}\text{C}\text{O}_2$*

Le principe consiste à mesurer l'aliment analysé ou les cellules recueillies sur un filtre en présence d'un sucre ou une substance métabolisable marquée ^{14}C . Le $^{14}\text{CO}_2$ qui se dégage est piégé dans une solution basique pour en mesurer la radioactivité.

Cette radioactivité mesurée rend compte de l'activité globale de la flore microbienne du produit et donc de son importance. Certains auteurs ont utilisé le spectromètre à scintillation liquide, plus sensible, et d'autres, le "flow counter" en y envoyant directement le $^{14}\text{CO}_2$.

5. 5. 5. 2. *Mesure par absorption ou adsorption de composés marqués*

La méthode par absorption repose sur la propriété qu'ont de nombreux micro-organismes de concentrer dans leurs cellules certaines substances importantes pour leur fonctionnement. Il n'est pas rare que ce phénomène de transport actif conduise à des concentrations intracellulaires 1 000 à 10 000 fois supérieures aux

concentrations extra cellulaires.

Ce procédé présente les particularités suivantes:

- le composé marqué est un acide aminé radioactif, choisi parmi ceux que les micro-organismes hétérotrophes concentrent le plus activement, en général la lysine.

- les micro-organismes sont d'abord collectés sur une membrane qui est ensuite appliquée sur un tampon absorbant imbibé de milieu de culture, comme la technique de culture sur membrane; après une incubation brève, la membrane est reprise, rincée sur un appareil de filtration et séchée.

- la détection se fait au spectromètre à scintillation liquide, la membrane étant introduite avec les cellules qu'elle porte dans le liquide à scintillation. Une cellule sur membrane peut être mise en évidence en des temps variant de 24 à 8 heures suivant l'espèce.

C'est un procédé intéressant dont le principal inconvénient est d'être radiométrique, encore que les doses de radioactivité mises en jeux soient très faibles.

Ces techniques rapides sont susceptibles de participer à l'évolution nécessaire du contrôle microbiologique. Elles sont plus fiables mais présentent des inconvénients dont les plus souvent évoqués semblent être l'absence de spécificité, et le coût relativement élevé. Elles nécessitent un équipement assez important, semi-automatique. Aussi, elles sont peu adaptées aux pays en voie de développement dans le contrôle des matières premières et la fabrication des produits finis.

6. Buts du travail.

On sait peu de chose sur les qualités microbiologiques des glaces et des crèmes glacées produites au Cameroun, d'où l'intérêt de notre étude.

Le présent travail vise donc à contribuer à la connaissance de ces qualités, à mettre à la disposition des industriels et autres fabricants de glaces et des crèmes glacées de nos métropoles, un document pouvant les aider à améliorer leur production, et à proposer aux décideurs une base pour le contrôle de la qualité de ces produits.

Les critères d'appréciation sont ceux de l'arrêté du 21 décembre 1979. L'article 7 du-dit arrêté expose les critères microbiologiques relatifs aux laits fermentés, aux laits gélifiés, aux fromages frais pasteurisés, aux crèmes fraîches pasteurisées, aux glaces et crèmes glacées, aux caséines et caséinates. En ce qui concerne les glaces et crèmes glacées ces critères sont les suivants :
bactéries aérobies mesophiles ≤ 370000 UFC/g
coliformes totaux ≤ 100 UFC/g, coliformes fécaux ≤ 10 UFC/g

Après l'introduction qui constitue la première partie du mémoire, nous aborderons la seconde partie par une brève présentation des procédés usuels de fabrication des glaces et des crèmes glacées. Nous exposerons ensuite les principales méthodes et techniques qui ont été utilisées pour la présente étude.

Nous présenterons dans la troisième partie du manuscrit les résultats obtenus suivis des commentaires qui en découlent.

La quatrième et dernière partie du mémoire enfin, traitera de la discussion générale et de la conclusion de notre étude.

Deuxième partie:

MATERIELS ET METHODES

1. Résumé des procédés de fabrication des glaces et des crèmes glacées

1. 1. Généralités

Veisseyre, (1975), rapporte que la fabrication des crèmes glacées n'est pas récente. Les civilisations orientales connaissaient les boissons et les entremets glacés bien avant le moyen-âge. Le mot sachet trouve son origine dans la langue arabe où il signifie "sirop". Au XII^e siècle, Marco Polo rapporta en Italie des recettes de rafraîchissements glacés. En France, Catherine de Médicis fit connaître les glaces à l'italienne au XVI^e siècle. Il faut attendre la fin du XIX^e siècle et les progrès de la technique frigorifique, pour que naisse la fabrication industrielle des crèmes glacées. Aux USA en 1910, apparaît le premier ouvrage traitant de la technologie de la crème glacée.

D'un pays à l'autre, les produits glacés ne sont pas toujours comparables et les réglementations sont différentes.

En France, la fabrication et le commerce des glaces et des crèmes glacées sont soumis aux prescriptions des décrets du 19 mai 1949 et du 13 septembre 1967. Ces décrets, complétés par une lettre circulaire de 1951, fixent les dispositions concernant la composition et la fabrication des diverses catégories de produits glacés. D'après ces dispositions:

1°- Les dénominations glace à la crème, crème glacée, ice-cream, sont réservées aux produits obtenus par congélation d'un mélange pasteurisé de lait, de crème, et de sucre (saccharose) parfumé dans des conditions définies, à l'aide de fruits, de jus de fruits ou d'un arôme naturel autorisé.

Ces produits doivent renfermer au minimum, pour 100 g de produit fini:

a)- lorsque le parfum utilisé est un arôme naturel: 14 g de saccharose, 7 g de matière grasse, 31 g de matière sèche;

b)- lorsqu'il s'agit de crèmes glacées aux fruits ou aux jus de fruits: 14 g de saccharose, 5 g de matière grasse, 29 g de matière sèche.

2°- La dénomination glaces aux œufs est réservée aux produits obtenus par congélation d'un mélange pasteurisé de lait, de jaune d'œuf et de sucre. Ces glaces doivent renfermer au minimum 16 g de sucre, 7 g de jaune d'œufs, 2 g de matière grasse et 29 g de matière sèche pour 100 g de produit.

3°- Les dénominations glace à ... ou glace au sirop ... suivies d'un nom de fruit ou d'un arôme naturel sont réservées aux produits obtenus par congélation d'un mélange pasteurisé d'eau potable et de sucre (teneur minimum: 25 g ou 18 g pour 100 g de produit fini, selon les cas). L'addition de lait ou de crème est tolérée et fréquente.

4°- Les quantités minima de fruits ou de parfums à employer pour la fabrication de tous les produits glacés, à quelque catégorie qu'ils appartiennent, doivent être les suivantes pour 100 g de produit fini:

a)- glaces aux fruits usuels (fraises, abricots, framboises, etc...): 20 g de fruits frais ou congelés sous forme de pulpe ou de purée ou l'équivalent en jus de fruits frais ou pasteurisé ou concentré;

b)- glaces aux arômes naturels:

- chocolat: 2 g de pâte ou poudre de cacao

- praliné: 3 g d'amandes douces d'amandier ou de noisettes ou du mélange des deux;

- café: 2,5 g de café sous forme de grains torréfiés ou d'infusion concentrée en quantité correspondante;

- vanille: 0,1g de vanille ou l'équivalent en sucre vanillé ou essence de vanille naturelle;

- pistache: 3 g de pistache en graines, à l'exclusion de tout autre produit;

- malt: 10 g d'extrait de malt à 70% de maltose;

- caramel: 8 g de saccharose caramélisé en sus des quantités prévues aux articles précédents.

5°- Est autorisé l'emploi de lait concentré sucré ou non, de lait sec écrémé ou non, de beurre (pour remplacer la crème), de jaune d'œuf en poudre, d'œufs congelés, d'eau-de-vie, de fruits, de rhum et de liqueurs non saccharinés, de colorants autorisés en confiserie, de stabilisateur dans une proportion ne dépassant pas 1% du poids du produit fini (gélatine, blanc d'œuf, agar-agar, caroube, alginate de sodium, pectine).

L'emploi de parfums synthétiques, d'amidon, de fécule, de farine, est interdit. L'addition de glucose, de dextrose et de sucre inverti est tolérée dans certaines conditions.

6°- Le lait reconstitué ou non, utilisé pour la préparation du mélange, doit avoir subi une ébullition à 100°C pendant au moins 4 minutes ou une pasteurisation à 82-85°C pendant au moins 15 secondes. Le traitement (UHT) Ultra Haute Température est autorisé. La crème doit avoir été chauffée à une température minimale de 72°C pendant au moins 4 minutes.

Si le lait et la crème ne sont pas utilisés dans l'heure qui suit le chauffage, ils doivent être refroidis et maintenus à 6°C, 4°C ou 2°C, selon que leur utilisation a lieu dans un délai de 24 heures, de 48 heures ou de 72 heures; respectivement.

Le mélange de la totalité des constituants doit subir une pasteurisation (au moins 30 minutes à 65°C ou un traitement équivalent), puis un refroidissement immédiat à 6°C maintenu jusqu'au moment de la congélation qui doit intervenir dans les 24 heures.

Après congélation et jusqu'à la livraison aux consommateurs, les produits doivent être conservés à une température inférieure à -10°C.

Le lait, qu'il soit concentré ou non, et le sucre, apportent aux crèmes glacées de l'extrait sec qui leur donne du corps. La matière grasse, sous forme de beurre ou de crème, leur confère de l'onctuosité. Le stabilisateur accroît cette onctuosité et maintient en forme le produit glacé. Les oeufs interviennent dans le même sens, mais améliorent aussi le goût et la couleur.

Tous ces produits doivent être d'excellente qualité. En particulier, le lait et la crème doivent être frais.

Pour la fabrication industrielle d'un produit glacé, les proportions d'éléments à apporter sont définies à l'avance.

Par exemple, à partir de crème à 40% de matière grasse et 5,4% d'extrait sec dégraissé, de lait à 4% de matière grasse et 8,8% d'extrait sec dégraissé, et de lait concentré sucré à 30% d'extrait sec et 40% de sucre, nous devons préparer 6 kg d'un mélange contenant 10% de matière grasse, 13% d'extrait sec dégraissé, 14% de sucre, 1% de stabilisant.

Le mélange ainsi obtenu est réalisé dans une cuve à agitateur. Tous les produits entrant dans la constitution de la glace sont apportés à l'exception des parfums et des colorants qui pourraient être altérés au cours de la pasteurisation. Seul le cacao est ajouté au mélange dès le début du travail sous forme d'une liqueur sucrée.

Le mélange subit d'abord une cuisson à 65°C pendant 30 minutes, dans une cuve à double paroi et à agitateur.

On peut également pratiquer un chauffage en continu (72°C pendant 15 minutes) dans des appareils à plaques ou à tubes ou un chauffage (UHT) Ultra Haute Température à 135-150°C pendant 3 à 4 secondes. Ce traitement dissout le sucre et le stabilisateur, cuit les œufs et développe l'arôme du cacao s'il est présent. Le mélange chaud est alors homogénéisé, ce qui favorise le foisonnement ultérieur tout en évitant les risques de barattage dans le congélateur.

Le mélange est ensuite réfrigéré dans un échangeur fermé ou sur un appareil à ruissellement, à une température maximale de 5°C d'où il subit une maturation en bac pendant une douzaine d'heures. Cette maturation est nécessaire lorsqu'on utilise comme stabilisateur, de la gélatine, de l'agar-agar ou du caroube. En effet, ces produits gonflent lentement, et il faut que le glaçage intervienne sur un mélange dont le stabilisateur présente le maximum de gonflement: celui-ci conditionne le maintien en forme du produit glacé.

Avec l'alginate de sodium comme stabilisateur, la maturation peut être limitée, car l'action stabilisatrice de cette substance est très rapide.

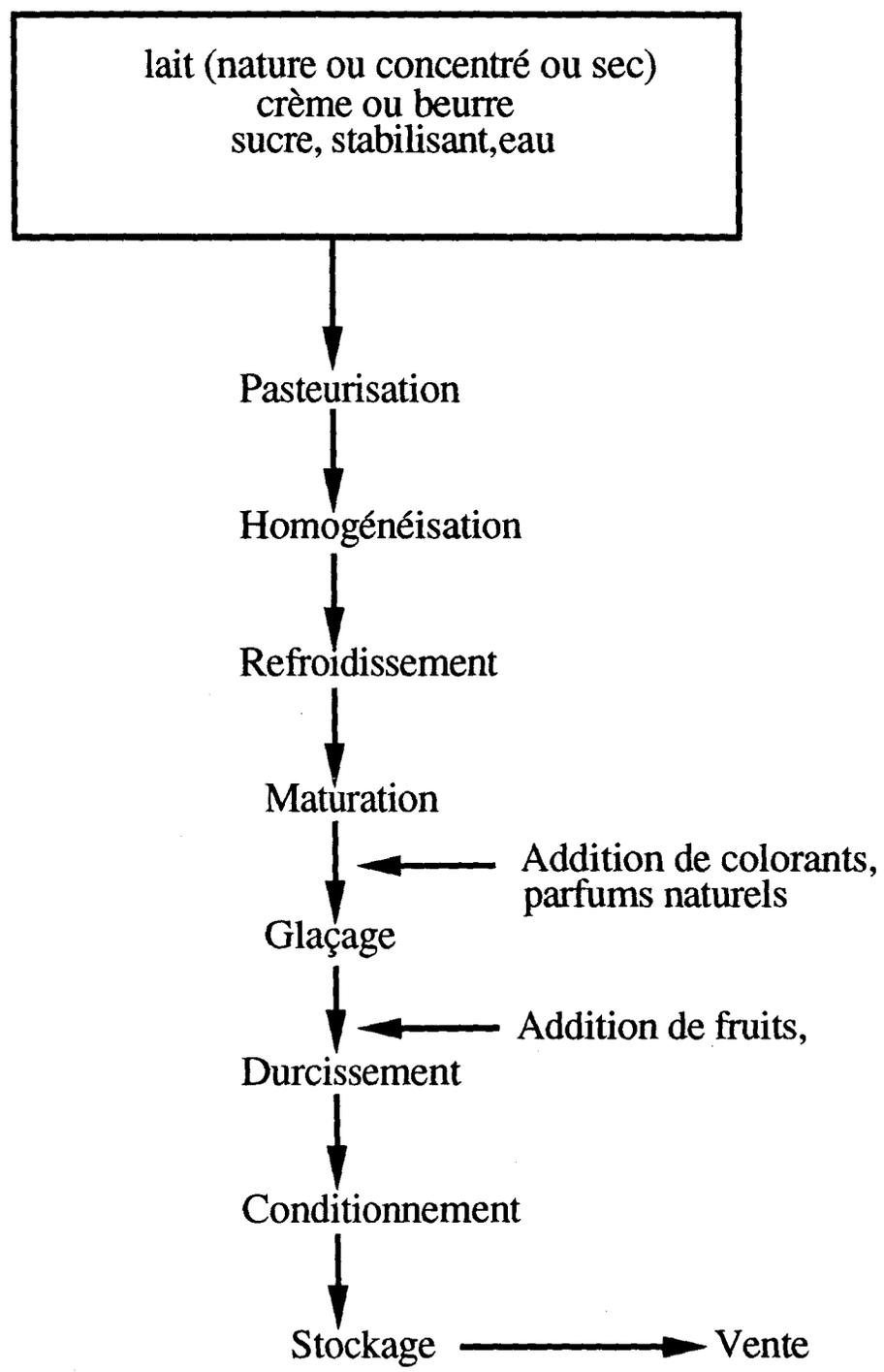
Après maturation, on refroidit le mélange à 0°C et on ajoute éventuellement les parfums (café, vanille, fraise, etc...) ainsi que les colorants naturels.

Suit le glaçage, c'est-à-dire la transformation du mélange en crème glacée. Pour ce faire, on utilise industriellement un congélateur en continu ou freezer. Il importe surtout de ne pas provoquer la formation de volumineux cristaux qui donneraient à la glace une structure grumeleuse. Au cours de l'opération, le foisonnement de la glace peut atteindre 100%.

Le volume du mélange est donc doublé par rapport à ce qu'il était avant le glaçage.

Après glaçage, la crème est moulée dans les moules métalliques de différentes formes. Les crèmes glacées durcies convenablement sont enfin conditionnées, puis emballées dans les boîtes en carton dans lesquelles on peut placer un petit bloc de glace carbonique permettant la conservation de façon satisfaisante du produit pendant quelques heures. Le stockage de plus longue durée peut être réalisé dans les chambres à 25°C au dessous de zéro.

Diagramme de la fabrication des crèmes glacées



Les bâtonnets glacés enrobés de chocolat sont apparus aux USA vers 1921 sous le nom d'Esquimau. Ils se sont répandus dans tous les pays où leur fabrication connaît un grand succès.

Pour cette production, la crème est fabriquée dans les conditions analogues à celles qui ont été exposées précédemment. Toutefois, le glaçage est moins poussé. Seulement 25 à 30% de la crème sont sous forme de fins cristaux noyés dans une masse fluide épaisse, non congelée. Le moulage est effectué dans des moules à alvéoles recouvertes d'un couvercle portant les tiges de bois qui s'enfoncent dans les bâtonnets de crème. Les moules sont ensuite portés dans un bain de saumure à -25°C pendant 45 minutes afin de durcir la crème. Pour procéder au démoulage, les moules sont trempés dans un bain d'eau tiède puis on soulève les couvercles qui entraînent alors les tiges de bois et les bâtonnets de crème glacée qui sont soudés désormais à ces tiges.

Le chocolatage est effectué par trempage des bâtonnets glacés dans un bain de chocolat à point de fusion 10°C contenant une forte proportion de beurre de cacao afin que le revêtement fige rapidement en adhérant bien à la crème et croque suffisamment sous la dent.

Après solidification rapide du revêtement de chocolat, les bâtonnets sont ensachés et stockés au froid jusqu'à la vente.

1. 2. Procédés de fabrication des glaces et des crèmes glacées au Cameroun

Les glaces et les crèmes glacées vendues dans nos métropoles sont de fabrication semi-industrielle ou artisanale. Il convient pour cette étude de distinguer les deux modes de fabrication.

1. 2. 1. Procédé de fabrication semi-industrielle

Les glaces et les crèmes glacées de fabrication semi-industrielle sont confectionnées dans les petites entreprises de produits laitiers disposant d'une balance, d'un pasteurisateur, d'un freezer ou d'une sorbetière, et d'une chambre froide pour le stockage de leurs produits. Ces entreprises fabriquent à partir de la poudre de lait importé, d'autres produits laitiers tels que le lait entier, le lait demi-écrémé, les yaourts, le beurre, les crèmes liquides.

Pour la fabrication des glaces, le lait en poudre ou le lait concentré, qu'il soit sucré ou non, est utilisé pour reconstituer le lait liquide (100 g de lait en poudre pour 1 litre d'eau). L'eau utilisée provient:

*pour l'usine de Douala, de l'eau de distribution publique, et en cas de coupure d'eau, de réserves stockées dans des citernes;

*pour l'usine de Yaoundé, d'un forage alimentant l'usine.

Suivant la composition des glaces, plusieurs ingrédients sont ajoutés au lait reconstitué. Ce sont:

- les oeufs
- la crème fraîche
- le sucre
- le lait concentré sucré
- la poudre de vanille blanche ou jaune
- le stabilisateur (agar-agar, ou caroube ou alginate de sodium).

Trois sortes de bases peuvent être préparées pour les glaces et les crèmes glacées. La composition de ces bases pour 1 litre de lait reconstitué est la suivante:

Base blanche:

- 300 g de sucre
- 50 g de poudre de vanille blanche
- 50 g de lait concentré sucré
- 50 g de crème fraîche.

Base jaune

- 350 g de sucre
- 6 jaunes d'oeufs et deux blancs d'oeuf
- 250 g de poudre de vanille jaune
- 60 g de lait concentré sucré
- 30 g de crème fraîche.

Base de chocolat

- 300 g de sucre
- 120 g de poudre de cacao
- 50 g de lait concentré
- 30 g de crème fraîche
- 2 oeufs
- 20 g de poudre de vanille blanche.

Le mélange est ensuite introduit dans une cuve contenant la quantité d'eau nécessaire et homogénéisé.

Pour chacune des bases, les différents ingrédients sont d'abord malaxés en présence d'une petite quantité d'eau avant d'être introduits dans une cuve contenant la quantité d'eau nécessaire, et homogénéisés.

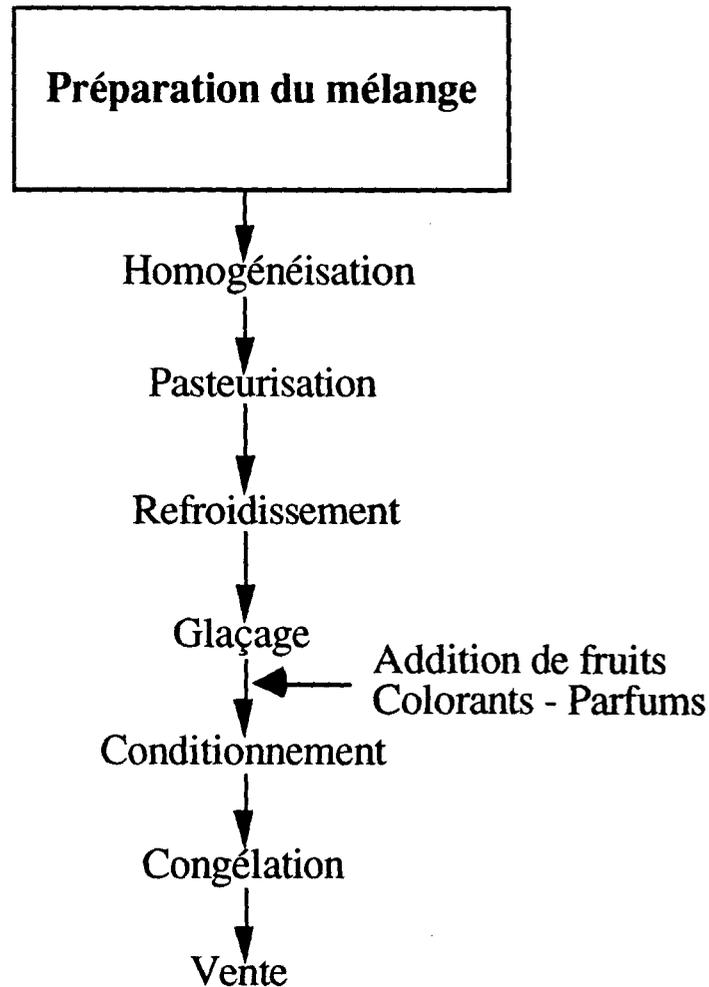
Le produit subit ensuite soit une pasteurisation haute (85°C pendant 15 secondes pour les bases jaunes, soit une pasteurisation basse (65°C pendant 30 minutes) pour les bases blanches.

Le mélange passe par une maturation à 5°C pendant une douzaine d'heures. Cette maturation est nécessaire pour que les produits stabilisateurs puissent gonfler.

Les arômes et les colorants présents dans le commerce sous différentes formes: en poudre (café), en paillettes (chocolat), en pâte (soupe anglaise, pistache, fraise) ou liquide (rhum, strega) et les fruits naturels (ananas, banane, fruit de la passion, citron), pris au stade de la maturation sont ajoutés au mélange. Ce dernier est introduit dans le freezer ou dans une sorbetière d'où il sort foisonné. Les glaces et les crèmes glacées ainsi obtenues sont moulées dans des bacs où elles sont tassées à l'aide d'une spatule. Elles sont stockées dans la chambre froide à -25°C et sont destinées à la vente.

Les étapes de la fabrication semi-industrielle des produits

Diagramme de fabrication semi-industrielle



1. 2. 2. Procédé de fabrication artisanale

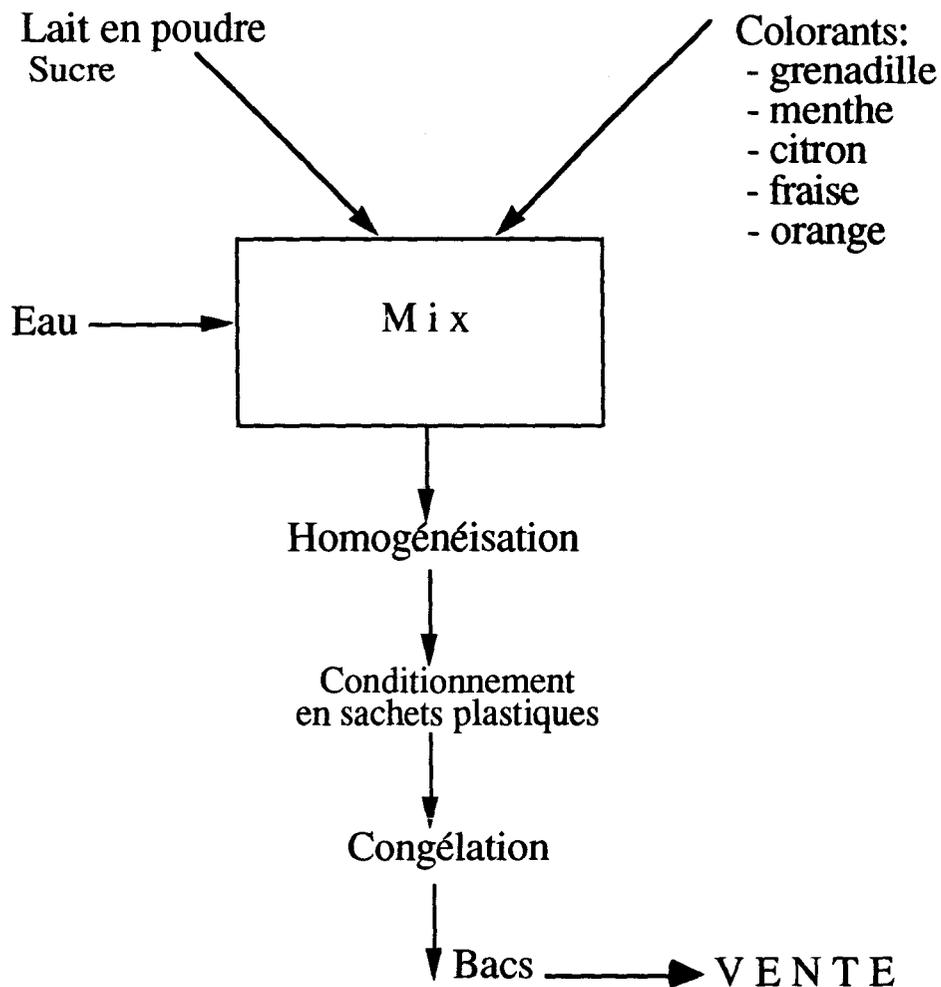
A Douala comme à Yaoundé, la fabrication artisanale se déroule dans les petites cellules familiales travaillant dans des maisons ou des locaux plus ou moins aménagés.

La production est faite en petites quantités. Ces unités utilisent l'eau d'usage courant à leur disposition: eau de distribution publique, eau de réserve dans des citernes, eau de puits ainsi que du lait en poudre, du sucre, des colorants (grenadille, menthe, citron, fraise, orange).

Dans une bassine contenant de l'eau tiède est ajoutée le lait, le sucre, le colorant choisi, le mélange est ensuite homogénéisé

Après la fabrication, les produits sont conditionnés dans des sachets plastiques ou dans des bacs et rangés au congélateur pour glaçage. Ces glaces seront livrées dans les petites glacières pour la vente ambulante.

Le procédé de fabrication artisanale peut être résumé ainsi qu'il suit:



2. METHODOLOGIE

Afin de pouvoir déterminer l'origine des contaminants, des prélèvements ont été faits sur les matières premières (l'eau, le lait, les ingrédients ou les additifs) à la surface du matériel et au niveau de l'air ambiant des salles des usines.

Tous les prélèvements sont acheminés au laboratoire en enceinte réfrigérée. L'analyse microbiologique complète est faite dans les heures qui suivent les prélèvements.

Elle porte sur:

- la recherche de la flore bactérienne totale,
- la recherche des coliformes totaux,
- la recherche des coliformes thermotolérants *Escherichia coli* notamment
- la recherche des staphylocoques pathogènes,
- la recherche des streptocoques fécaux,
- la recherche d'anaérobies sulfitoréducteurs, *Clostridium perfringens*
- la recherche des germes pathogènes (*Salmonella*, *Shigella*).
- la recherche de *Bacillus cereus*
- la recherche des levures et moisissures.

Elle comprend une étude qualitative permettant d'isoler et d'identifier les micro-organismes présents dans les échantillons et une étude quantitative visant à dénombrer les germes tests.

Dans le tableau 1 sont résumés les différents types de germes qui ont été recherchés au cours de cette étude, les milieux de culture utilisés, la température, la durée d'incubation et les caractéristiques morphologiques des colonies isolées.

Milieu de culture	Usage	Incubation	Caractéristiques Morphologiques des colonies
Gélose PCA	Dénombrement des germes totaux aérobies mésophiles	24 heures à 37°C	Forme, taille, couleurs variables
Gélose TTC + TERGITOL	Recherche et dénombrement des coliformes	24 heures à 37°C	Colonies jaunes avec halos profonds sont soit Escherichia coli, Citrobacter, Klebsiella pneumoniae, Enterobacter
Milieu ENDO	Recherche et dénombrement des coliformes thermotolérants dans les eaux	24 heures à 44°C	Colonies rouges à éclat métallique doré (E. coli) ou sans éclat métallique
Milieu de CHAPMAN mannité	Recherche et dénombrement des staphylocoques dans les eaux	24 à 48 heures à 37°C	Les souches de Staphylococcus aureus forment des colonies luxuriantes avec une auréole jaune dorée
Bouillon spécial Plasma de lapin	Recherche de la Staphylocoagulase	24 heures à 37°C	Les souches de Staphylococcus aureus provoquent la coagulation du plasma.
Gélose de SLANETZ et BARTLEY	Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux dans les eaux.	24 heures à 37°C	<ul style="list-style-type: none"> - Colonies rouge-violacé ou marron avec ou sans auréole blanche - Petites colonies grisâtres tendant à l'envahissement (Proteus) - Colonies légèrement bleutées plates à surface irrégulière de 2 à 4 mm de diamètre (Pseudomonas) - Colonies grises opaques très petites 0,5 mm de diamètre : <i>Escherichia coli</i>
Milieu Gélosé à l'oxytétracycline (OGA)	Recherche et dénombrement des levures et des moisissures	2 à 5 Jours à 20 °C à 25 °C	

Tableau 1: Milieux de culture et indication de leurs usages respectifs

Milieu de culture	Usage	Incubation	Caractéristiques Morphologiques des colonies
Gélose HEKTOEN	Isolement et différenciation des entérobactéries pathogènes	24 heures à 37°C	<ul style="list-style-type: none"> - Les colonies bleues à centre noir sont des Proteus, Salmonella ou Edwardsiella. - Les colonies vertes sont essentiellement des Shigella, Providencia, Aeromonas, etc... - Les petites colonies bleu brunâtre sont des Pseudomonas. - Les colonies saumon sont des Escherichia, Citrobacter, Serratia.
Gélose sélective BAIRD-PARKER	Isolement et dénombrement des Staphylocoques coagulase positifs, de Staphylococcus aureus.	24 à 48 heures à 37°C	- Les colonies de Staphylococcus aureus sont noires produisant sur ce milieu opaque un halo noir autour de la colonie correspondant à une zone de protéolyse.
Milieu de Mossel	Dénombrement des formes végétatives et des spores de Bacillus cereus.	24 à 48 heures à 30°C	Les colonies de Bacillus cereus sont plates, irrégulières, rugueuses et elles ont une tendance envahissante.
Gélose Désoxycholate 0.5 %	Dénombrement des coliformes	24 heures à 37°C 24 heures à 44°C	Colonies de coliformes totaux Colonies de coliformes thermotolérants
Gélose B.E.A. (Bile-Esculine-Azide)	Recherche et dénombrement des streptocoques ^{Streptocoques} fécaux	18 à 24 heures à 37°C	Les colonies de streptocoques fécaux sont petites, translucides entourées d'un halo noir.
Gélose T.S.N. (Tryptone Sulfite-Néomycine)	Isolement et dénombrement de Clostridium perfringens	24 heures à 44°C	Les colonies apparaissent entourées d'une auréole noire de taille importante.
Bouillon de Rapaport-Vassiliadis	Enrichissement et recherche de Salmonella	24 heures à 44°C	

Tableau 1 (suite): Milieux de culture et indication de leurs usages respectifs

L'identification des micro-organismes a été complétée par la coloration de gram et au moyen de tests biochimiques: recherche de l'oxydase, de la coagulase, de la désoxyribonucléase, du type respiratoire. Des galeries Api 20 E, Api 20 A et Api Système ont été utilisées. Les souches de *Salmonella* ont été adressés au Centre de Référence de l'Institut Pasteur de Paris pour sérotypage.

Pour la recherche de ces différents germes, quatre techniques ont été mises en œuvre:

2. 1. La technique des membranes filtrantes

Elle a été utilisée pour l'analyse des eaux de fabrication provenant soit de la distribution publique, soit de captage individuel.

Le prélèvement des échantillons d'eau est effectué dans des conditions d'asepsie rigoureuse (robinet désinfecté et flambé). L'eau est prélevée dans un flacon de verre stérile de 500 ml et acheminée rapidement en enceinte réfrigérée pour être analysée.

100 ml de l'eau à analyser sont aspirées à travers un filtre membrane d'ester de cellulose de porosité 0,45 μm , et de 47 mm de diamètre au moyen d'un dispositif de filtration de marque Millipore relié à une pompe à vide.

Il est nécessaire quelques fois, lorsque les eaux sont riches en germes de faire des dilutions à l'eau distillée stérile.

Après filtration, les membranes sont déposées sur les milieux sélectifs appropriés, et mises à incuber pendant 18, 24 ou 48 heures à 30, 37 ou 44°C selon les germes recherchés.

2. 2. La technique de la double couche

Cette technique est utilisée pour les matières premières prélevées au niveau des usines (lait, ingrédients, sucre, œufs, colorants) à partir des sacs ou des pots non entamés. Acheminés au laboratoire, ils sont analysés selon les techniques classiques.

25 g de chacun des produits sont introduits dans des tubes contenant 100 ml d'eau peptonée tamponnée. Un examen direct (coloration de gram) permet d'évaluer les micro-organismes présents et de faire des dilutions. Ces dilutions

décimales (10^{-1} , 10^{-2} ...) sont effectuées dans des tubes contenant 9 ml de tryptone sel. Chaque tube est agité à la main ou à l'agitateur mécanique (Vortex) avant le passage à la dilution suivante.

Pour réaliser les dilutions, il a été fait recours à la méthode volumétrique simple, en utilisant des pipettes graduées stériles à usage unique.

Les échantillons sont ensemencés par inclusion d'1 ml des solutions mères ou des dilutions dans les milieux sélectifs appropriés, fondus et ramenés à 45°C. Après refroidissement, une deuxième couche est coulée sur la première. Les boîtes sont ultérieurement retournées et incubées aux différentes températures.

Les colonies sont dénombrées dans les boîtes contenant au moins 30 et au plus 300 colonies. Les résultats sont exprimés en unités formant colonies (UFC) par gramme de produit examiné.

2. 3. Technique par étalement en boîte de pétri

Cette méthode est utilisée pour la recherche des staphylocoques pathogènes, des streptocoques fécaux, de *Bacillus cereus* et des levures et moisissures.

0,1 ml du produit à ensemenecer est déposé à la surface du milieu approprié. L'étalement est fait de façon régulière à la pipette "râteau".

2. 4. La technique de l'écouvillonnage

Cette méthode permet d'évaluer les contaminations microbiennes à la surface du matériel utilisé aux diverses étapes du procédé de fabrication.

A l'aide d'un écouvillon stérile humidifié avec de l'eau distillée stérile, la surface à analyser est balayée. L'écouvillon est ensuite transféré dans un tube contenant du bouillon tryptone sel. Les germes dispersés dans du liquide sont ensemencés sur différents milieux.

Pour le contrôle hygiénique des salles de fabrication et de stockage des matières premières, des boîtes contenant des milieux gélosés sont déposées ouvertes pendant 10 minutes dans les endroits à contrôler. Ces boîtes sont ensuite incubées à 37°C.

Pour le personnel, des appositions des mains sont réalisées sur différents milieux de culture et ceux-ci sont incubés à 37°C ou à 44°C.

L'analyse microbiologique des produits finis a porté sur 300 échantillons de glaces et de crèmes glacées produites dans les deux métropoles (Douala et Yaoundé) pendant 24 mois (avril 1989 - mars 1991).

61 échantillons ont été prélevés dans une usine de Douala, 109 autres étant issus d'une usine de Yaoundé.

130 glaces de fabrication artisanale des deux métropoles ont été achetées au voisinage des écoles et dans les marchés auprès des marchands ambulants.

Parallèlement, 30 échantillons de glaces importées (de fabrication industrielle) ont été achetés dans un supermarché de la ville de Yaoundé et analysés.

Les échantillons de glaces pris au bec de l'appareil distributeur ou moulés à la cuillère du vendeur sont recueillis dans des flacons stériles à large ouverture. Certaines glaces sont conditionnées en sucettes ou en timbales ou en petits pots. Les emballages en papier ou en plastique de ces sucettes sont développés et les produits sont glissés dans les bouches stériles. La tige de bois terminant certaines sucettes est coupée au ras de la glace à l'aide des ciseaux préalablement flambés. Quant aux timbales et petits pots, ils sont mis directement dans les glacières. Il en est ainsi des flacons contenant les échantillons.

La réfrigération dans les glacières pendant le transport est assurée par des plaques de blocs réfrigérants.

La décongélation des produits se fait à température ambiante. Par agitation mécanique ou à l'aide de billes de verre, les produits sont homogénéisés.

L'analyse microbiologique des échantillons de glaces et de crèmes glacées est faite dans les 24 heures après les prélèvements à l'aide des techniques habituelles décrites ci-dessus.

Troisième partie :

RESULTATS ET COMMENTAIRES

1. ETUDE REALISEE A L'USINE DE DOUALA

1. 1. Matières premières

1. 1. 1. Eau

L'usine de Douala utilise l'eau de distribution publique. Quoique traitée par chloration, cette eau renferme encore quelques germes mésophiles (130 UFC/100 ml) ainsi qu'une population de *Pseudomonas aeruginosa* (20 UFC/100 ml).
Eau analysée en avril 1989 - Les résultats sont la moyenne des 3 prélèvements

A son arrivée à l'usine, l'eau passe à travers un filtre Katadyn de porosité 0,2 µm. Analysée à la sortie du filtre, elle est alors exempte de germes. Elle ne possède ni odeur, ni saveur. Elle est limpide et potable. La qualité bactériologique de cette eau est conforme aux normes françaises pour les eaux utilisées dans les entreprises alimentaires à des fins de fabrication, de traitement ou de conservation des produits destinés à être consommés par l'homme (Annexe I).

1. 1. 2. Lait et autres ingrédients

1. 1. 2. 1. Le lait

provenant de Hollande
Le lait en poudre est conservé dans des sacs entreposés à l'usine. Les résultats d'analyses de ce lait indiquent qu'il contient des germes mésophiles (1×10^3 UFC/g), des coliformes totaux (160 UFC/g), *Bacillus cereus* (1×10^2 UFC/g). Ont été également isolés: *Enterobacter cloacæ*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Le lait reconstitué dans les cuves avec de l'eau de distribution filtrée héberge quelques germes mésophiles (5×10^3 UFC/g), des coliformes totaux (11×10^2 UFC/g), *Bacillus cereus* (5×10^2 UFC/g), *Staphylococcus aureus* (7×10^2 UFC/g).

L'étude qualitative des coliformes indique que ces derniers sont constitués de populations d'*Enterobacter cloacæ* et *Klebsiella pneumoniae*. D'autres germes ont été également isolés; ce sont *Pseudomonas aeruginosa* et *Alcaligenes* sp.

Par rapport aux normes microbiologiques françaises (micro-organismes aérobies: $\leq 3.10^4$ UFC/g) et coliformes totaux (≤ 5 UFC/g), la charge microbienne en coliformes du lait en poudre, ainsi que du lait reconstitué est plus importante que les valeurs recommandées. La contamination du lait reconstitué par rapport au lait en poudre pourrait provenir des cuves et du personnel. La présence de *Staphylococcus aureus* parmi les germes qui ont été isolés est l'indication que le personnel concourt à l'augmentation du nombre de germes observés.

Germes	Lait en poudre	Lait reconstitué	Sucre *	Vanille	Fraise	Oeuf
Germes totaux mésophiles	1×10^3 $C \leq 3 \times 10^4$	5×10^3 $C \leq 5 \times 10^4$	16×10^2 $C \leq 200$	4×10^3	18×10^3	35×10^3
Coliformes totaux	$C \leq 5$ <u>160</u>	$C \leq 5$ <u>11×10^2</u>	<u>150</u>	$C \leq 1000$ <u>25×10^2</u>	$C \leq 1000$ <u>1×10^3</u>	$C \leq 1000$ <u>1×10^3</u>
Coliformes thermotolérants	0	0	0	0	0	0
Staphylococcus aureus	0	$C \leq 10$ <u>7×10^2</u>	0	0	0	0
Streptocoques fécaux	0	0	0	0	0	0
Levures et Moisissures	0	0	$C \leq 10$ <u>7×10^2</u>	0	0	0
Clostridium perfringens	0	0	0	0	0	0
Bacillus cereus	<u>1×10^2</u>	<u>5×10^2</u>	$C \leq 150$ <u>5×10^2</u>	0	0	0

Tableau 2: Teneur en germes microbiens des matières premières utilisées à l'usine de Douala. Résultats exprimés en unités formatrices de colonies par gramme (UFC/g) de produit.

C : critère microbiologique en UFC/g de produit
 * pour le sucre C : UFC pour 10g de sucre

1. 1. 2. 2. Le sucre

Les résultats d'analyses du sucre utilisé pour la fabrication des glaces, exprimés en unités formatrices de colonies (UFC) indiquent que celui-ci contient par 10 grammes de sucre, des germes totaux (16×10^2), des coliformes (150), *Bacillus cereus* (5×10^2), des levures (7×10^2) dont *Saccharomyces* spp et *Torulopsis* sp. Ce sucre ne contient ni *Staphylococcus aureus*, ni Streptocoques fécaux, ni coliformes thermotolérants.

Par rapport aux normes microbiologiques proposées par Guiraud et Galzy (1980), la flore totale mésophile du sucre étudié est plus importante que les valeurs recommandées ($\leq 2 \times 10^2$ UFC/g) il en est de même du nombre de levures (≤ 10 UFC/10 grammes). Les valeurs obtenues pour ces deux paramètres sont nettement supérieures à celles préconisées par le "National Soft Drink Association" (germes mésophiles < 200 UFC/10g, levures - moisissures < 10 UFC/10g).

Les conditions de stockage dans les marchés seraient à l'origine de cette contamination du sucre. En effet ce produit est généralement emmagasiné avec d'autres produits dans les entrepôts dont les conditions de propreté et d'hygiène ne sont pas toujours favorables. Certains micro-organismes retrouvés dans les glaces (notamment les *Bacillus*) proviendraient du sucre de fabrication. Guiraud et Galzy (1980) soulignent que les opérations de chauffage intervenant au cours du raffinage du sucre détruisent une partie de la flore microbienne tout en sélectionnant les germes thermorésistants, en particulier les représentants des genres *Bacillus* et *Clostridium*.

1. 1. 2. 3. Les parfums

Les analyses microbiologiques des parfums (vanille, fraise) révèlent la présence de germes mésophiles (4×10^3 UFC/g pour la vanille), (18×10^2 UFC/g pour la fraise), des coliformes totaux (25×10^2 UFC/g pour la vanille); 1×10^3 UFC/g pour la fraise) dont *Enterobacter cloacæ* et *Klebsiella pneumoniae*. Ces parfums ne possèdent ni *Staphylococcus aureus*, ni streptocoques fécaux.

1. 1. 2. 4. Les œufs

La flore microbienne des œufs étudiés est constituée de germes mésophiles (35×10^3 UFC/g) dont certains représentants (1×10^3 UFC/g) sont des coliformes (*Enterobacter cloacæ* et *Citrobacter freundii*).

L'analyse qualitative a permis d'isoler d'autres germes tels *Pseudomonas aeruginosa*. Ces œufs ne contiennent ni *Staphylococcus aureus*, ni *Salmonella*.

L'arrêté du 8 juillet 1977 fixe les modalités d'analyse des œufs et établit les critères microbiologiques de ceux-ci: germes mésophiles aérobies ($\leq 1 \times 10^5$ UFC/g), coliformes totaux (≤ 10 UFC/g), staphylocoques pathogènes (≤ 100 UFC/g), *Salmonella* (absent dans 25g).

Les œufs étudiés hébergent une population bactérienne plus importante en entérobactéries et peuvent être une source d'apport de germes pour les glaces.

D'après Bourgeois et Leveau, (1980), les œufs en coquille sont les produits qui présentent les défenses antimicrobiennes naturelles les plus efficaces. La contamination microbienne des œufs dépend essentiellement de la propreté des surfaces où ils sont pondus et de la manière dont ils sont manipulés après la ponte.

Aussi, la moindre microfêlure de la coquille aura des conséquences néfastes importantes sur la conservation de l'œuf. Si la coquille est intacte, la seule voie de pénétration des micro-organismes à l'intérieur de l'œuf est constituée par les pores. Les conditions de stockage (temps, température, humidité) ainsi que le lavage des œufs ont une influence sur leur contamination.

Les résultats des analyses faites sur les matières premières ont été consignés dans le tableau 2.

1. 2. Matériels et équipements de la chaîne de fabrication

- A l'usine de Douala, l'assiette de pesée, les seaux plastiques, les spatules, les fourchettes et les autres ustensiles destinés à recueillir les glaces subissent toujours avant usage, un lavage à l'eau savonneuse suivi d'un rinçage à l'eau de distribution publique.

De même, la sorbetière et le pasteurisateur sont nettoyés et désinfectés avant tout usage à l'aide des produits (soude, acide nitrique et orsonia), puis rincés à l'eau de distribution. (orsonia = détergent industriel)

- Au niveau de l'assiette servant à peser les aliments ont été isolées les espèces suivantes: *Enterobacter cloacæ*; *Pseudomonas aeruginosa*, *Ps putida* et *Staphylococcus aureus*.

- Sur les seaux plastiques, les spatules et les récipients destinés à recueillir les glaces sont présents: des coliformes totaux (*Enterobacter cloacæ*, *Klebsiella pneumoniae*), des Staphylocoques (*Staphylococcus aureus*), des Pseudomonas, (*Ps. æruginosa*, *Ps putida*) et des levures (*Candida tropicalis*, *Candida parasilopsis*), des moisissures (*Geotrichum candidum*, *Cladosporium sp*).

L'assiette de pesée, les seaux plastiques, les récipients et les spatules destinés à recueillir les glaces hébergent encore des germes malgré le nettoyage à l'eau savonneuse. Il serait souhaitable que ce lavage soit suivi d'une désinfection à l'hypochlorite de sodium (eau de javel) avant le rinçage à l'eau, afin de réduire voire éliminer toute trace de germe à la surface de ces matériels.

L'écouvillonnage réalisé au niveau de la sorbetière et du pasteurisateur indique la présence, sur ces appareils, d'une flore bactérienne constituée essentiellement de *Pseudomonas æruginosa*.

La charge microbienne de l'enceinte de l'usine se compose de germes mésophiles, de coliformes (*Enterobacter cloacæ*, *Klebsiella pneumoniae*), de streptocoques fécaux, de levures (*Candida guilliermondii*, *C. parakrusei*) et de moisissures (*Geotrichum candidum*, *Cladosporium sp*, *Aspergillus niger*). Les murs intérieurs qui subissent une fois par semaine les opérations de nettoyage et de désinfection demeurent une source non négligeable de contamination des glaces. Les ouvriers prennent appui et, sans avoir lavé les mains, ils les utilisent ensuite pour manipuler les produits aux différentes étapes de la fabrication des glaces.

1. 3. PRODUITS FINIS

1. 3. 1 Etude qualitative

Sur les 61 glaces et crèmes glacées analysées, il apparaît que :

- 100 % des échantillons sont porteurs de coliformes totaux, représentés essentiellement par les espèces suivantes :

- *Enterobacter cloacae* , présente dans 36 échantillons, soit 59 % des produits examinés ;

- *Klebsiella pneumoniae* , isolée dans 24 échantillons, ce qui représente 39,4% ;

- *Citrobacter freundii*, observée dans 12 échantillons, soit 19,5 % ;

Par ailleurs, 41 échantillons, soit 67,2 %, hébergent des coliformes thermotolérants dont *Escherichia coli* ;

- 20 échantillons, soit 32,8 %, sont contaminés par les Streptocoques fécaux;

- 10 échantillons, soit 16,3 %, renferment des *Clostridium perfringens* ;

- 7 échantillons, soit 11,4 %, sont porteurs de *Bacillus cereus* ;

D'autres germes ont été isolés dans ces produits. Ce sont:

- *Pseudomonas aeruginosa*, présent dans 35 échantillons, soit 57,4 % ;

- *Flavobacterium sp*, dans 8 échantillons soit 13,1 % ;

- *Alcaligenes sp*, dans 6 échantillons soit 9,8 % ;

Enfin, 14 échantillons, soit 22,9 %, contiennent des levures et moisissures parmi lesquelles ont été identifiées les espèces suivantes :

- *Candida tropicalis*, *Candida guillermondii*, *Candida parasilopsis*, *Aspergillus niger* et *Geotrichum candidum*.

1. 3. 2. Etude quantitative

Les résultats obtenus, exprimés en unités formatrices de colonies par gramme de produit analysé, sont réunis dans le tableau 3. Ils peuvent être répartis en cinq à sept classes selon les germes, les effectifs des classes étant rapportés au nombre total des produits analysés (Tableau 4).

Il apparaît ainsi que:

Pour les germes mésophiles aérobies : (Figure 1 a)

80 % des glaces et crèmes glacées étudiées renferment au plus 30×10^3 germes mésophiles aérobies, les 20 % restant hébergeant de 30×10^3 UFC/g à 50×10^3 UFC/g. Le critère microbiologique est ≤ 300000 UFC/g
100 % des échantillons sont conformes pour ce critère

Pour les coliformes totaux : (Figure 1 b)

Le critère microbiologique est ≤ 100 UFC/g
3 Les effectifs des populations de ces denrées s'échelonnent de 5×10^2 UFC/g à 24×10^4 UFC/g. 100 % des échantillons s'avèrent non conformes pour ce critère dont:

57,5 % des produits analysés appartiennent à la classe 1 et 2 où l'on dénombre (Tableau 4) de 5×10^2 à 5×10^3 UFC/g de coliformes. Pour ce paramètre, 91,9 % des produits étudiés se répartissent entre les classes 1, 2, 3 et 4. La limite supérieure de cette dernière étant de 24×10^3 UFC/g.

Quant aux coliformes thermotolérants: (Figure 2 a)

67,2 % des échantillons non porteurs de coliformes thermotolérants
L'analyse de la distribution des germes dans les produits qui en sont porteurs révèle que 56,1 % de ces derniers hébergent entre 100 et 1000 UFC/g. Les effectifs des classes 3, 4 et 5 dont les populations microbiennes sont comprises entre 1000 et 2500 UFC/g pour cette catégorie de germes, correspondent à 41,5 % de ces produits. Exprimés par rapport à l'ensemble des produits étudiés, ces pourcentages sont de 37,7 % et 29,6 %, respectivement (Tableau 4).

Pour les streptocoques fécaux: (Figure 2 b)

Dans 60 % des échantillons des glaces et des crèmes glacées contaminés ont été isolés des germes appartenant aux classes 1 et 2 caractérisées par des populations évoluant de 300 à 2000 UFC/g.

Les 40% restant sont constitués par les classes 3, 4, 5, 6 et 7;; correspondant aux populations hétérogènes évoluant de 2001 à 10000 UFC/g.

- Aucun échantillon de glace et de crème glacée n'est porteur de Staphylocoque pathogène.

Abréviation : (Tableau 3)

GMA :	Germes mésophiles aérobies
CT :	Coliformes totaux
CF :	Coliformes fécaux
SP :	Staphylocoques pathogènes
SF :	Streptocoques fécaux
LM :	Levures et moisissures
CP :	Clostridium perfringens
BC :	Bacillus cereus

GMA	C.T.	C.F.	ST.	S.F.	L.M.	C.P.	B.C.	No
50000	13000	1400	0	10000	0	0	0	1
10000	2000	1000	0	300	2000	2000	1000	2
50000	12500	1500	0	1000	0	0	0	3
30000	13000	1000	0	1500	0	0	0	4
26000	5000	125	0	2000	1000	0	5000	5
4000	5000	100	0	1500	0	0	0	6
1000	500	0	0	0	0	0	0	7
7500	5500	0	0	0	0	0	0	8
25000	15000	0	0	0	0	0	0	9
8500	2500	0	0	0	0	0	0	10
5000	1000	0	0	0	0	0	0	11
20000	1500	700	0	0	0	0	0	12
15000	6000	100	0	1000	5000	2000	2000	13
30000	5000	100	0	5000	2500	1000	1000	14
1500	1850	500	0	1000	0	2000	1000	15
25000	7000	300	0	1000	0	0	0	16
4000	2000	0	0	0	0	0	0	17
13000	8000	0	0	0	0	0	0	18
11000	9000	1650	0	0	0	0	0	19
14500	3000	1250	0	0	0	0	0	20
22000	3000	600	0	0	4000	0	1000	21
12000	5500	2350	0	0	0	0	0	22
15000	5000	0	0	0	0	0	0	23
7500	3000	0	0	0	0	0	0	24
7000	1500	1000	0	3500	0	0	0	25
20000	500	0	0	500	0	0	0	26
5000	1000	100	0	0	0	0	0	27
5500	4500	105	0	0	0	0	0	28
31500	7500	2500	0	0	0	0	0	29
9000	5500	1250	0	0	0	0	0	30
7500	5500	0	0	0	0	0	0	31
11000	5000	1700	0	0	0	0	0	32
8000	5500	1700	0	0	0	0	0	33
10500	2500	1500	0	300	0	500	0	34
11000	2500	1500	0	0	0	0	0	35
32500	9500	8000	0	500	0	0	0	36
44500	24000	1000	0	0	0	0	0	37
12000	8000	530	0	0	0	0	0	38
7600	4000	0	0	0	0	0	0	39
8200	5000	0	0	0	0	0	0	40
19500	1300	230	0	0	0	0	2000	41
35000	6000	1000	0	3000	0	0	0	42
50000	3000	2500	0	0	3500	1000	0	43
50000	5500	450	0	500	4500	0	0	44
19400	5500	0	0	0	0	0	0	45
42500	5000	0	0	0	0	500	0	46
19000	3500	400	0	0	0	0	0	47
29000	2500	0	0	0	0	0	0	48
36500	2250	0	0	0	0	0	0	49
13500	8450	400	0	0	0	1550	0	50
28590	9860	1240	0	0	2200	0	0	51
13150	1550	0	0	0	0	0	0	52
50000	5000	1500	0	5000	0	0	0	53
15000	2300	500	0	3000	0	1000	0	54
40000	5000	2500	0	0	5000	500	0	55
13500	1300	400	0	7000	1500	0	0	56
21000	8500	0	0	0	10000	0	0	57
22000	7500	200	0	0	6400	0	0	58
31500	5500	0	0	0	15	0	0	59
17500	10000	2300	0	0	0	0	0	60
21500	2300	1200	0	6980	1000	0	0	61

Tableau 3 : Résultats des analyses effectuées sur les produits finis fabriqués à l'usine de Douala

a) Germes Mésophiles Aérobie

Classes	Intervalles	Effectifs	% sur 41	% sur 61
1	de 1 à 10 000	17	-	27,8
2	de 10 001 à 20 000	20	-	34,2
3	de 20 001 à 30 000	11	-	18,0
4	de 30 001 à 40 000	6	-	9,7
5	de 40 001 à 50 000	7	-	11,3

b) Coliformes Totaux

Classes	Intervalles	Effectifs	% sur 41	% sur 61
1	de 1 à 2 500	19	46,3	31,2
2	de 2 501 à 5 000	16	39	26,3
3	de 5 001 à 7 500	13	24,3	21,2
4	de 7 501 à 10 000	8	19,5	13,2
5	de 10 001 à 12 500	1	2,4	1,6
6	de 12 501 à 15 000	3	7,3	4,9
	Non classé 24 000	1	2,4	

Tableau 4: Distribution des germes tests dans les produits finis fabriqués à l'Usine de Douala

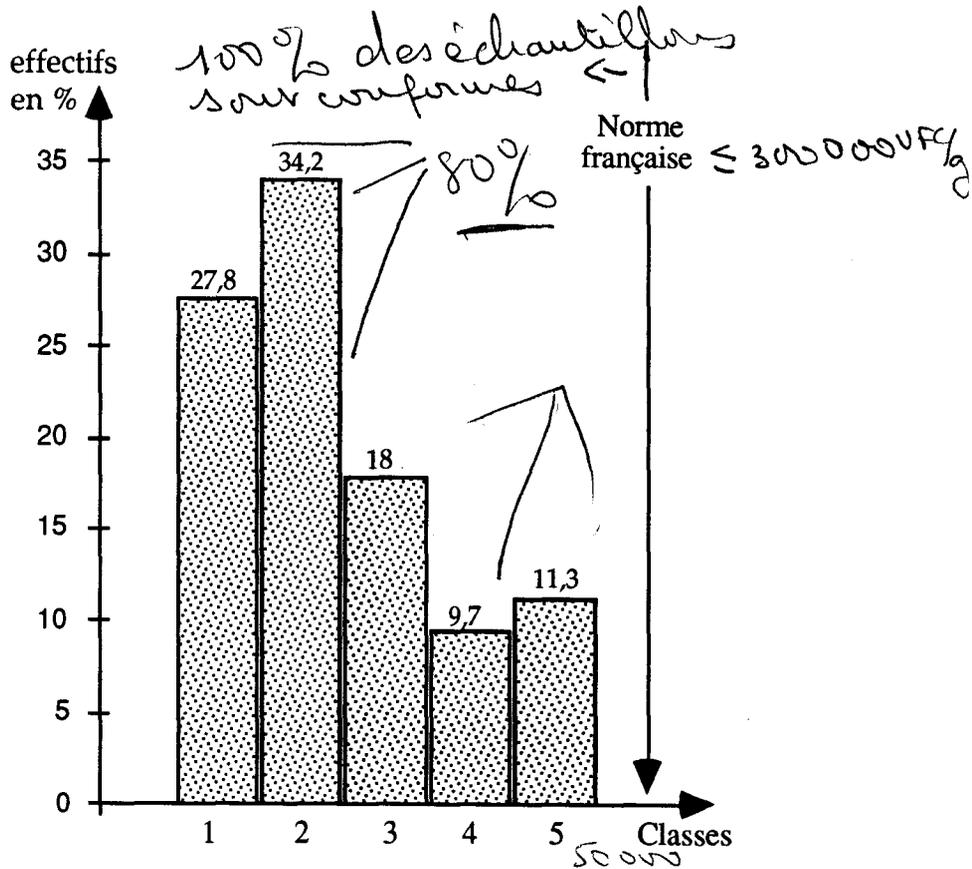
c) Coliformes Thermotolérants

Classes	Intervalles	Effectifs	% sur 41	% sur 61
1	de 1 à 500	15	36,6	24,6
2	de 501 à 1 000	8	19,5	13,1
3	de 1 001 à 1 500	9	21,9	14,7
4	de 1 501 à 2 000	3	7,3	4,9
5	de 2 001 à 2 500	5	12,2	8,2
	Non classé 8 000	1		

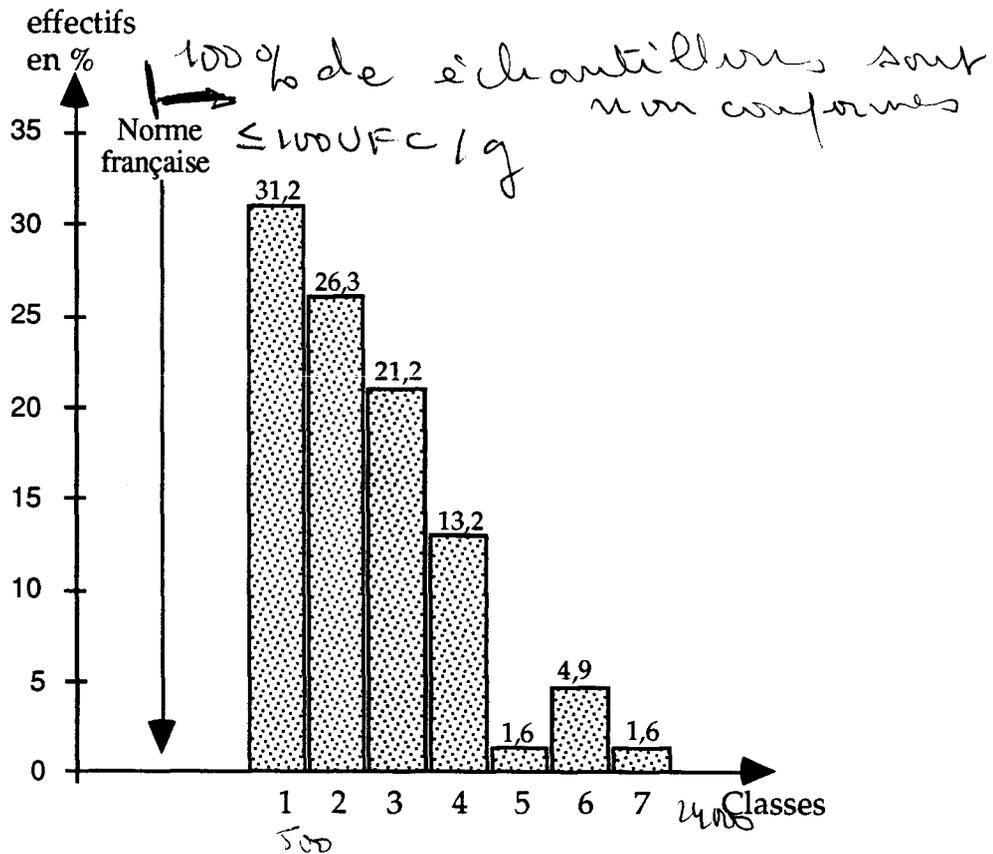
d) Streptocoques Fécaux

Classes	Intervalles	Effectifs	% sur 20	% sur 61
1	de 1 à 1 000	9	45	14,7
2	de 1 001 à 2 000	3	15	4,9
3	de 2 001 à 3 000	2	10	3,3
4	de 3 001 à 4 000	1	5	1,6
5	de 4 001 à 5 000	2	10	3,3
6	de 5 001 à 6 000	1	5	1,6
7	de 6 001 à 7 000	1	5	1,6
	Non classé 10 000	1		

Tableau 4 (suite) : Distribution des germes tests dans les produits finis fabriqués à l'Usine de Douala



a) Germes mésophiles aérobies



b) Coliformes totaux

Figure 1: Distribution des germes mésophiles aérobies a) et des coliformes totaux b) dans les produits finis fabriqués à l'usine de Douala

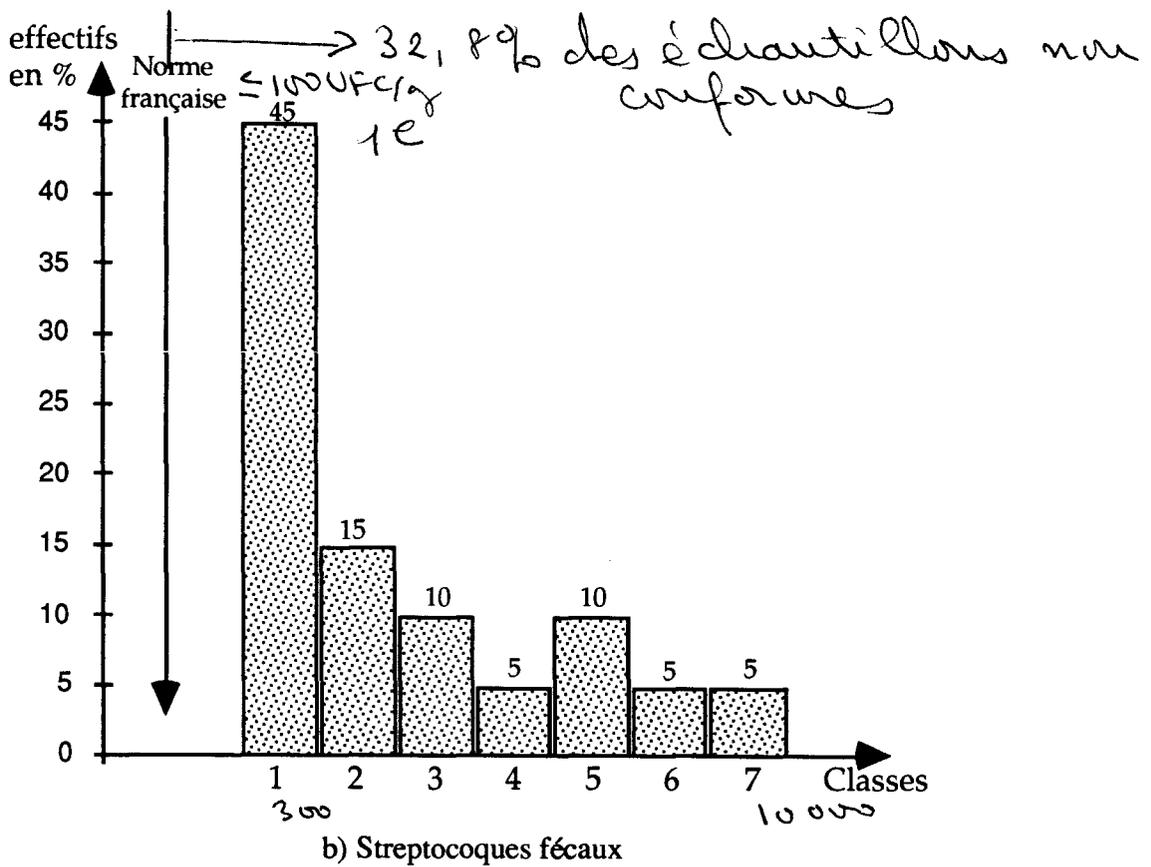
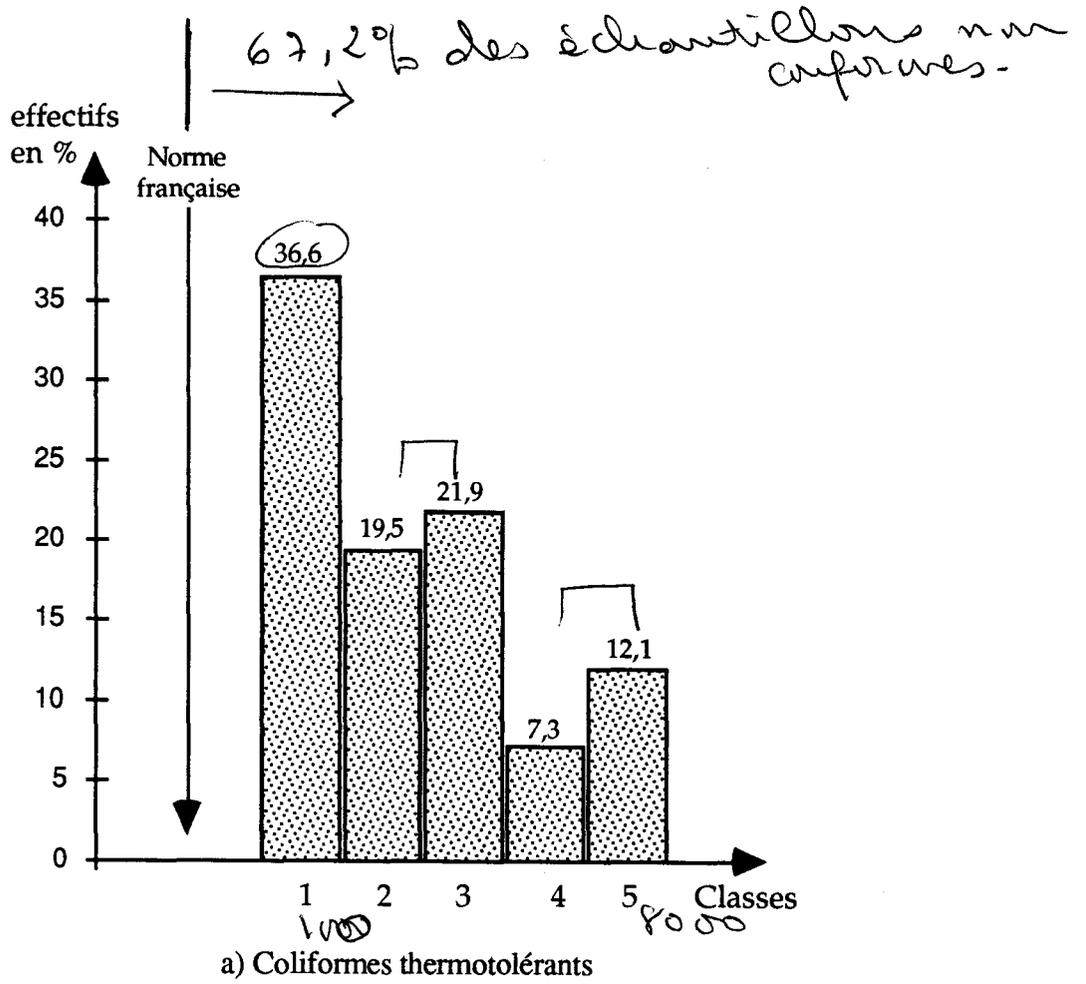


Figure 2: Distribution des coliformes thermotolérants a) et des streptocoques fécaux b) dans les produits finis fabriqués à l'usine de Douala

1. 4. Discussion

Trois sources de microbes peuvent avoir contaminé les produits finis:

- Les germes proviendraient du matériel mal lavé et non désinfecté: assiettes de pesée, seaux plastiques servant à recueillir les produits tout au long du processus de fabrication et lors du stockage des glaces.

- Le lait et autres ingrédients apporteraient aux glaces les germes: des coliformes (*Enterobacter cloacæ*, *Klebsiella pneumoniae*), des *Pseudomonas*, *Bacillus cereus*, des Streptocoques fécaux et les levures.

- Les glaces étant de fabrication semi-industrielle, le personnel intervient souvent dans le processus de fabrication, ce qui contribue à contaminer davantage les produits. Ainsi pourrait s'expliquer la présence fréquente de germes témoins de souillure fécale (*E. coli*, Streptocoques fécaux).

Ces germes peuvent provenir de l'enceinte de l'usine. Les murs intérieurs de l'usine contiennent quelques germes mésophiles, des coliformes, des Streptocoques fécaux et des levures et moisissures. Ces germes par le biais du personnel peuvent se retrouver dans les glaces et augmenter ainsi la charge microbienne de celles-ci.

2. ETUDE REALISEE A L'USINE DE YAOUNDE

2. 1. Matières premières

2. 1. 1. Eau

Dans le tableau 5 sont rassemblés les résultats d'analyses bactériologiques de l'eau de captage prélevée au niveau de l'usine de Yaoundé. Cette eau non traitée héberge des germes mésophiles aérobies (216×10^3 UFC/g), des coliformes thermotolérants (100 UFC/100 ml), dont *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacæ*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, des Streptocoques fécaux (160 UFC/100 ml), *Clostridium perfringens* (5×10^2 UFC/100 ml) auxquels viennent s'ajouter d'autres micro-organismes: *Pseudomonas aeruginosa*, *Alcaligenes sp*, *Flavobacterium sp* et *Aeromonas hydrophila*. La recherche de *Staphylococcus aureus* a donné des résultats négatifs.

Les caractéristiques microbiologiques de l'eau de fabrication sont réunies dans le tableau 5.

Germes	Nbre d'UFC pour 100 ml	Normes Françaises pour 100 ml
Germes mésophiles aérobies	216×10^3	≤ 2000 UFC
Coliformes totaux	91×10^3	<i>> 95% des échantillons n'ont pas</i>
Coliformes thermotolérants	1×10^2	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0
Streptocoques fécaux	160	0
Spoires de <i>Clostridium perfringens</i>	5×10^2	0

Tableau 5 : Qualité bactériologique de l'eau de fabrication à l'usine de Yaoundé. Résultats exprimés en nombre d'Unités Formatrices de Colonies (UFC) pour 100 ml d'eau analysée.

L'eau de cette usine est fortement contaminée. Généralement, l'eau souterraine est débarrassée des organismes qui sont retenus ou adsorbés au niveau des particules du sol. Si l'épaisseur du sol, sa texture, sa structure et son activité biologique sont suffisantes, l'eau souterraine peut atteindre une qualité microbiologique acceptable. Il est pourtant fréquent que des eaux souterraines contiennent des germes de contamination qui seraient dus à l'insuffisance du pouvoir de filtration des couches protectrices (Leclerc et Mossel, 1989).

Tel semble être le cas de cette eau de forage qui est souillée par les germes indicateurs de contamination fécale (*Escherichia coli*, Streptocoques fécaux). L'usine étant située en contrebas d'une colline, le problème de l'eau de forage l'alimentant reste préoccupant.

L'usine de Yaoundé ne dispose d'aucun système de traitement ou de stérilisation de cette eau de forage. L'installation d'un filtre à l'extrémité du circuit de captage contribuerait à améliorer notablement la qualité de cette eau.

Les récentes normes françaises (J.O., avril 1990) réglementent les eaux destinées à la consommation humaine y compris celles utilisées dans les entreprises alimentaires à des fins de fabrication, de traitement ou de conservation des aliments. Le non respect de ces critères par les fabricants expose les consommateurs, après ingestion, à des gastro-entérites aiguës, diarrhées et toxi-infections alimentaires dont les agents responsables pourraient être *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella* et d'autres coliformes lorsque ces derniers sont en quantité importante.

2. 1. 2. Lait et autres ingrédients

Le tableau 6 présente les résultats d'analyses microbiologiques du lait et des autres ingrédients utilisés pour la fabrication des glaces.

Germes	Lait en poudre	Lait reconstitué	Sucre	Vanille	Fraise	Noix de coco	Oeufs
Germes mésophiles aérobies	1750	122×10^3	≤ 100 1600	4×10^3	2450	4×10^3	4×10^4
Coliformes totaux	350	602×10^2	90	25×10^2 ≤ 1000	7×10^2	3×10^3 ≤ 1000	15×10^2 ≤ 1000
Coliformes thermotolérants	50	1×10^3	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	5×10^2	0	0	0	0	0
Streptocoques fécaux	0	1×10^3	0	0	0	0	0
Levures et Moisissures	0	2×10^3	≤ 10 50	0	0	2×10^3	0
Spores de <i>Clostridium perfringens</i>	1×10^3	2×10^3	0	0	0	0	0
<i>Bacillus cereus</i>	1×10^3	5×10^3	20	0	0	5×10^2	0

Tableau 6: Teneur en germes microbiens des matières premières utilisées à l'usine de Yaoundé. Résultats exprimés en nombre d'unités formant colonies par gramme (UFC/g) de produit examiné.

2. 1. 2. 1. Le lait provenant de Hollande

Du tableau 6, il ressort que le lait en poudre contient des germes mésophiles aérobies (1750 UFC/g), des coliformes totaux (350 UFC/g), des coliformes thermotolérants (50 UFC/g), (*Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*), des spores des germes anaérobies sulfitoréducteurs (*Clostridium perfringens*: 1×10^3 UFC/g); *Bacillus cereus* (1×10^3 UFC/g). *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter calcoaceticus* ont été également isolés.



Photo 1 : Manipulation du mélange
à l'usine de Yaoundé

Le lait liquide est reconstitué à partir de ce lait en poudre et de l'eau provenant du forage. Ce lait a une charge importante en germes (122×10^3 UFC/g) avec la présence des coliformes totaux (602×10^2 UFC/g), des coliformes thermotolérants (1×10^3 UFC/g), des Streptocoques fécaux (1×10^3 UFC/g), de *Staphylococcus aureus* (5×10^2 UFC/g), de *Bacillus cereus* (5×10^3 UFC/g) et de *Clostridium perfringens* (2×10^3 UFC/g). Certains laits reconstitués sont apparus être porteurs de *Shigella flexneri*.

D'après Larpent (1988), le lait cru est habituellement contaminé par une grande variété d'organismes d'origine endogène ou externe dont les représentants des genres *Pseudomonas* et *Flavobacterium*. *Acinetobacter* et les coliformes constituent la flore d'altération la plus fréquente.

Il signale la présence dans le lait en petits nombres de certains micro-organismes pathogènes (Bacilles de Koch, *Brucella*, *Campylobacter*, *Salmonella*).

Le lait en poudre subit en principe une pasteurisation avant d'être vendue. La qualité microbiologique de ce lait dépendra des stocks importés aux différents points de vente ainsi que des conditions de stockage.

L'arrêté du 13 septembre 1963 du J.O. français fixe les critères microbiologiques des laits secs en germes mésophiles (3×10^4 UFC/g) et en coliformes (5 UFC/g).

Le lait utilisé dans cette usine n'est pas conforme aux normes. Le lait reconstitué révèle une charge importante en germes mésophiles. Il contient en outre des coliformes et des germes témoins de contamination fécale (*Escherichia coli*, et les Streptocoques fécaux). Les germes proviendraient de l'eau de fabrication, des conditions de stockage du produit et du personnel qui, du fait de la production semi-industrielle, intervient à plusieurs niveaux au cours du processus de fabrication des glaces. De plus, la contamination du lait reconstitué dépend aussi des manipulations. Contrairement à l'usine de Douala où le personnel utilise les gants, il n'en est pas de même dans l'usine de Yaoundé. Le lait en poudre et les ingrédients mis dans l'assiette de pesée sont mélangés avec les doigts (Photo 1), certains germes (*Staphylococcus aureus*, voire *Shigella*) peuvent ainsi contaminer le mélange, ce qui en augmente la charge microbienne.

Des essais ont montré que si le même lait était mélangé avec des doigts munis de gants, la charge microbienne diminuerait en ce qui concerne les germes mésophiles aérobies (13×10^3 UFC/g), les coliformes (36×10^2 UFC/g) et les Streptocoques fécaux (50 UFC/g). Ce mélange ne serait plus contaminé par *Staphylococcus aureus*.



Photo 2 : Addition d'ingrédients au mélange pasteurisé

2. 1. 2. 2. Le sucre

Les résultats des analyses du sucre utilisé dans le mélange pour la fabrication des glaces, exprimés en nombre d'UFC par 10 grammes de sucre, indiquent qu'il contient des germes totaux mésophiles aérobies (16×10^2 UFC/10g), des coliformes totaux (9×10^2 UFC/10g), *Bacillus cereus* (2×10^2 UFC/10g) et des levures - moisissures (5×10^2 UFC/10g).

Quelques levures ont été identifiées dans le sucre étudié: *Saccharomyces sp* et *Torulopsis sp*.

La flore totale mésophile et les levures du sucre analysé sont en nombre plus important que les valeurs recommandées par Guiraud et Galzy (1980). Ces auteurs ont proposé pour ces deux types de germes: 2×10^2 UFC/10g et 10 UFC/10g) respectivement. Les conditions de stockage peu hygiéniques dans les marchés, seul ou associé à d'autres produits variés dans les entrepôts, seraient à l'origine de cette dégradation de la qualité du sucre.

2. 1. 2. 3. Les parfums

Les ingrédients (vanille, fraise, noix de coco, raisins secs) sont achetés en vrac dans les marchés locaux. Ils sont ensuite ajoutés au mélange (Photo 2). Ils augmentent la flore microbienne en germes totaux mésophiles (4×10^3 UFC par g pour la vanille, 2450 UFC/g pour la fraise, 4×10^3 UFC/g pour la noix de coco), en coliformes totaux (25×10^2 UFC/g pour la vanille, 7×10^2 pour la fraise, 3×10^3 UFC/g pour la noix de coco), en *Bacillus cereus* (5×10^2 UFC/g pour la noix de coco), en levures et moisissures (2×10^3 UFC/g pour la noix de coco).

Ces produits, par suite de leur thermosensibilité, sont ajoutés au mélange après le stade de pasteurisation et ils peuvent ainsi contaminer les produits finis.

2. 1. 2. 4. Les œufs

Les œufs hébergent une flore microbienne constituée de germes mésophiles (4×10^4 UFC/g) et de coliformes (15×10^2 UFC/g). Certains germes ont été isolés de ces œufs. Ce sont: *Enterobacter cloacæ*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii* et *Pseudomonas æruginosa*. Ces œufs ne contiennent ni *Staphylococcus aureus*, ni *Salmonella*.

2. 2. Matériels et équipements

Ils servent dans la fabrication du produit (Photo 3).

L'écouvillonnage de l'assiette servant à la pesée révèle la présence de germes mésophiles, des coliformes (*Enterobacter cloacæ*, *Klebsiella pneumoniae*), des Streptocoques fécaux, de *Staphylococcus aureus*, de *Pseudomonas aeruginosa*, de *Pseudomonas putida*, d'*Alcaligenes sp*, de *Flavobacterium sp*, des levures (*Candida parakrusei*, *Candida tropicalis*), des moisissures (*Geotrichum candidum*, *Cladosporium*, *Aspergillus niger*).

La Sorbetière et le pasteurisateur hébergent à leur surface des *Pseudomonas* et des Streptocoques fécaux.

Ces appareils sont nettoyés et désinfectés avant tout usage au détergent P3Z suivi d'un rinçage à l'eau de robinet.

Ces germes proviendraient de l'eau de fabrication utilisée pour le rinçage après désinfection. Il en est de même pour l'assiette de pesée et les seaux plastiques destinés à recueillir et à conserver les glaces. De plus, ce matériel plastique est d'usage difficile à entretenir contrairement au matériel en acier inoxydable pouvant être lavé et désinfecté facilement.

La charge microbienne à l'intérieur de l'usine est importante en germes mésophiles avec la présence des coliformes (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacæ* et *E. aerogenes*), des Streptocoques fécaux, des levures (*Candida guilliermondii*, *Candida parakrusei*, *Candida tropicalis*), des moisissures (*Geotrichum candidum*, *Cladosporium sp*, *Aspergillus niger*, *Kuyveromyces*, *Torulopsis sp*).

L'usine de Yaoundé est une grande salle non compartimentée où sont fabriqués en plus d'autres produits laitiers (yaourt - crème). Les murs subissent très peu d'opérations de nettoyage et de désinfection: 2 à 3 fois par an. Ils constituent une source non négligeable de contamination des produits en cours de fabrication. En effet, les ouvriers y posent les mains plusieurs fois pendant la fabrication. Sans les avoir lavées, ils les utilisent ensuite pour manipuler les produits à différentes étapes de la fabrication.

L'usine devrait être constituée de petites unités pouvant subir des nettoyages et désinfections fréquentes. Ce qui éviterait que les produits ne soient exposés au courant d'air. Il est nécessaire en outre que des dispositions soient prises sur le périmètre de l'usine afin d'éradiquer les insectes, les rongeurs (rats, souris etc..) et d'installer une protection efficace contre les animaux porteurs potentiel de bactéries pathogènes.

Des prélèvements effectués sur les mains du personnel indiquent la présence de la plupart des germes notamment les coliformes (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*), des *Pseudomonas*, des Streptocoques fécaux et de *Staphylococcus aureus*.

Le personnel devrait se munir de gants à usage unique au moment de la fabrication des produits, afin d'éviter au maximum une contamination de ceux-ci au cours de leur manipulation.

Le contrôle microbiologique effectué sur les matériels et équipements permet de détecter quatre poches essentielles de contamination des produits en cours de fabrication.

Ce sont: l'assiette de pesée, les seaux plastiques, les manipulations du personnel, les murs intérieurs de l'usine.

Ces matériels et équipements doivent être régulièrement nettoyés avant chaque utilisation et désinfectés à l'hypochlorite de sodium (en laissant un temps de contact suffisant de 15 à 30 minutes entre la solution désinfectante et leur surface utile) et rincés avec de l'eau traitée ou filtrée afin d'éviter la recontamination par cette dernière des matériels désinfectés.

D'après Deveaux (1987), les équipements, malgré le traitement nettoyage, désinfection, rinçage contiennent encore des germes microbiens à leur surface et sont susceptibles d'apporter une contamination secondaire aux produits correctement pasteurisés.

En effet, le contrôle de l'eau du pasteurisateur et l'analyse des prélèvements effectués au niveau de la sorbetière après rinçage révèlent la présence des *Pseudomonas* (usine de Douala), de *Pseudomonas* et de Streptocoques fécaux (usine de Yaoundé).

Les opérations de nettoyage et de désinfection des matériels, équipements et locaux ont une très grande importance en industries agro-alimentaires

Ces deux opérations doivent être complétées par le rinçage destiné à éliminer les substances utilisées dans les deux premières étapes, sans bien sûr apporter une nouvelle souillure ou de nouveaux micro-organismes.

Ces opérations doivent nécessairement être bien conduites, car selon Plusquellec et Leveau, (1980), beaucoup d'accidents technologiques tant au cours de la fabrication qu'au cours du stockage sont imputables à un mauvais nettoyage et/ou à une désinfection incomplète ou inefficace; il peut en résulter une altération de la qualité du produit du fait d'une charge microbienne trop élevée et de la présence possible des germes pathogènes. De même, un rinçage mal conduit peut entraîner la présence dans le produit des résidus de substances de nettoyage et de désinfection qui sont indésirables.

2. 3. Produits Finis

2. 3. 1. Etude qualitative

L'étude des 109 échantillons de glaces et crèmes glacées révèle que :

Tous les produits sont porteurs de coliformes totaux dont les populations plurispécifiques sont constituées par les espèces suivantes :

- *Enterobacter cloacae*, présente dans 49 échantillons, soit 45 % de l'ensemble des produits étudiés ;

- *Klebsiella pneumoniae* , isolée dans 47 échantillons, soit 43 % ;

- *Proteus mirabilis* , retrouvée dans 40 échantillons, soit 37 % ;

- *Citrobacter freundii* , identifiée dans 30 échantillons, soit 27 % ;

- *Enterobacter aerogenes* , obtenue dans 19 échantillons, soit 17 % ;

- *Serratia marcescens* , dans 10 échantillons, soit 9 %.

94 échantillons (86 %) sont souillés par des coliformes thermotolérants dont *Escherichia coli*.

80 échantillons (74 %) hébergent des streptocoques fécaux. La présence de *Staphylococcus aureus* a été décelée dans 56 échantillons, soit 51 %.

Bacillus cereus a été retrouvé dans 27 échantillons, soit (25%) et

Clostridium perfringens isolé dans 23 échantillons, soit (21%).

Outre ces facteurs qui ont fait l'objet par ailleurs d'une étude quantitative, de ces produits finis; d'autres germes ont été isolés, il s'agit de :

- *Pseudomonas aeruginosa* , dans 63 échantillons, soit (58 %)
- *Flavobacterium sp* , dans 45 échantillons, soit (41 %)
- *Pseudomonas putida* , dans 20 échantillons, soit (18 %)
- *Alcaligenes sp* , dans 17 échantillons, soit (15 %)
- *Acinetobacter calcoaceticus* , dans 12 échantillons, soit (11 %)

4 échantillons se sont révélés contaminés par les *Salmonella* dont 2 par *S. enteritidis* et 2 par *S. typhimurium*.

Des levures et moisissures sont présentes dans 52 échantillons (48 %). Elles sont composées de *Candida culliculosa*, *C.famata*, *C.guilliermondii*, *C.tropicalis*, *C.parakrusei*, *C.parasilopsis*, *Geotrichum candidum*, *Aspergillus niger* et des espèces non déterminées : *Candida sp*, *Kuyveromyces sp*, *Cladosporium sp*.

2. 3. 2. Etude quantitative

Les résultats des analyses quantitatives qui ont été effectuées sur ces produits sont présentés dans le tableau 7.

GMA	C.T.	C.F.	ST.	STR.F.	L.M.	C.P.	B.C.	9
105 000	10 000	2 500	350	3 000	0	0	0	1
205 000	80 000	2 000	1 000	1 000	0	0	0	2
17 500	1 050	0	0	1 500	0	0	0	3
17 200	1 160	150	0	0	0	0	0	4
100 000	12 500	4 000	800	5 000	0	0	0	5
450 000	10 000	7 000	3 000	800	1 000	0	4 000	6
245 000	20 000	0	1 500	0	0	2 000	0	7
500 000	10 000	3 000	0	10 000	0	0	0	8
300 000	70 000	7 500	0	20 000	30 000	0	0	9
56 000	5 800	300	470	300	0	0	0	10
10 000	250	0	0	300	0	0	0	11
50 000	3 000	300	0	2 500	1 000	0	0	12
144 000	54 000	8 000	1 000	0	20 000	0	0	13
100 000	30 000	2 230	7 000	0	6 000	0	0	14
100 000	25 000	2 000	0	500	1 000	0	0	15
150 000	35 000	10 000	0	5 000	8 000	1 000	3 000	16
300 000	10 000	2 500	0	1 500	0	0	0	17
150 000	35 000	3 000	0	0	0	0	0	18
70 000	25 000	0	0	1 500	0	0	0	19
200 000	35 000	0	1 500	5 000	0	0	0	20
65 000	14 000	7 000	0	0	10 000	0	0	21
50 000	8 500	550	0	2 000	2 000	0	0	22
65 500	10 000	6 000	0	0	8 000	0	0	23
44 000	10 000	5 000	0	0	3 000	1 000	1 000	24
100 000	15 000	5 000	0	0	5 000	500	0	25
150 000	20 000	5 000	500	4 000	0	0	0	26
555 000	22 000	1 100	0	0	10 000	1 000	3 000	27
150 000	30 000	2 500	0	5 000	0	0	0	28
150 000	17 200	4 000	2 500	0	4 000	0	0	29
100 000	30 000	1 250	500	10 000	1 000	0	0	30
304 000	19 000	5 500	0	2 500	1 500	1 000	500	31
225 000	100 000	11 500	1 250	0	50 000	0	0	32
500 000	150 000	5 000	0	0	2 800	0	4 000	33
100 000	50 000	3 500	0	6 000	0	0	0	34
200 000	30 000	15 000	0	3 500	0	4 000	2 500	35
160 000	11 000	550	1 500	800	0	0	0	36
500 000	40 000	25 000	0	20 000	10 000	100	100	37
780 000	30 000	10 000	0	0	50 000	0	0	38
900 000	50 000	755	0	2 000	0	2 500	0	39
155 000	30 000	1 000	0	2 000	0	2 500	0	40
500 000	30 000	15 000	0	0	10 000	0	8 000	41
250 000	10 000	3 000	1 500	1 000	0	2 000	0	42
170 000	12 600	55	4 510	4 000	0	0	0	43
150 000	20 000	1 500	2 500	10 000	3 000	1 000	0	44
220 000	50 000	6 000	0	3 750	0	0	0	45
100 000	65 000	1 000	1 000	10 000	30 000	0	0	46
440 000	10 000	2 400	5 300	3 300	0	0	1 000	47
500 000	10 000	5 000	15 000	20 000	0	1 000	1 000	48
900 000	30 300	0	1 400	3 000	0	1 000	1 000	49
375 000	38 000	3 100	1 230	0	12 500	0	1 000	50
300 000	23 000	1 000	0	1 500	500	0	5 000	51
250 000	25 000	5 000	4 000	8 000	0	0	0	52
43 000	20 500	90	0	0	0	0	0	53
48 600	20 800	310	180	1 400	0	0	0	54

Tableau 7 : Résultats des analyses effectuées sur les produits finis fabriqués à l'usine de Yaoundé

70 000	2 500	110	0	2 500	1 000	0	1 500	55
35 000	5 000	15	0	0	0	0	0	56
15 500	3 000	0	0	2 000	0	0	0	57
150 000	75 000	10 000	0	5 000	8 000	1 000	3 000	58
535 000	42 500	3 000	500	5 000	3 000	0	0	59
139 000	10 000	0	1 500	7 500	5 000	0	0	60
250 000	8 200	5 000	1 000	2 800	40 000	0	0	61
500 000	150 000	7 000	1 500	10 000	0	2 500	3 000	62
500 000	35 000	450	300	3 500	0	3 000	0	63
150 000	12 000	7 500	1 000	10 000	1 000	0	0	64
150 000	25 000	130	0	0	0	0	0	65
150 000	50 000	2 500	100	10 000	0	0	0	66
95 000	24 500	195	0	0	0	0	1 500	67
400 000	15 000	4 200	500	10 000	1 000	500	1 500	68
1 000 000	12 000	500	5 000	6 000	0	1 000	3 000	69
900 000	10 000	1 000	0	10 500	700	0	0	70
212 000	22 400	190	200	0	0	0	0	71
410 000	38 000	280	1 140	0	0	0	0	72
139 000	10 000	0	1 500	7 500	5 000	0	0	73
244 000	30 000	8 000	3 000	20 000	17 500	0	0	74
250 000	20 000	5 000	1 500	10 000	0	2 000	0	75
150 000	30 000	5 000	0	3 000	0	0	0	76
780 000	34 500	1 000	5 000	4 500	5 000	0	0	77
500 000	70 000	7 500	1 000	3 000	0	0	0	78
640 000	18 500	8 750	1 200	8 000	4 000	0	4 000	79
150 000	50 000	0	1 000	15 000	10 000	0	0	80
500 000	25 000	400	300	3 500	3 000	0	0	81
100 000	20 000	3 000	1 500	1 500	1 000	0	0	82
200 000	40 000	1 900	0	2 500	5 000	1 000	0	83
200 000	50 000	100	0	500	0	0	500	84
19 500	9 000	1 000	4 000	0	0	0	0	85
13 500	3 500	0	5 000	1 500	0	0	0	86
104 000	96 000	84	930	1 680	0	0	0	87
57 000	10 400	45	0	3 000	0	0	0	88
100 000	20 000	3 000	1 500	1 500	500	0	0	89
50 000	15 000	3 000	0	1 750	1 000	0	0	90
50 000	40 000	1 350	850	8 000	0	0	0	91
300 000	50 000	5 000	500	7 000	4 500	3 000	5 000	92
310 000	10 000	5 400	700	2 000	4 000	0	0	93
460 000	18 000	0	6 000	0	10 000	0	0	94
300 000	60 000	750	0	1 500	1 000	0	2 500	95
340 000	12 100	130	1 500	1 680	0	0	3 000	96
200 000	15 000	7 000	1 500	10 000	0	2 500	0	97
180 000	10 000	0	1 500	7 500	5 000	0	0	98
150 000	23 000	1 000	0	1 500	500	0	0	99
150 000	38 000	3 100	1 230	0	12 500	0	5 000	100
150 000	30 300	0	1 400	3 000	0	1 000	1 000	101
100 000	40 000	25 000	0	20 000	0	0	0	102
70 000	15 000	5 000	0	0	5 000	0	0	103
50 000	35 000	1 000	0	5 000	1 000	0	0	104
50 000	25 000	2 000	0	500	0	1 000	3 000	105
35 000	10 000	7 500	0	2 000	0	0	0	106
15 000	1 050	0	1 500	500	0	0	0	107
250 000	20 000	5 000	1 500	10 000	0	0	0	108
300 000	34 500	1 000	5 000	4 500	5 000	0	0	109

Tableau 7 (suite) : Résultats des analyses effectuées sur les produits finis fabriqués à l'usine de Yaoundé

a) Germes Mésophiles Aérobie

Classes	Intervalles	Effectifs	% sur 109	%
1	de 1 à 100 000	37	34	-
2	de 100 001 à 200 000	28	25,7	-
3	de 200 001 à 300 000	16	14,7	-
4	de 300 001 à 400 000	5	4,6	-
5	de 400 001 à 500 000	14	12,8	-
6	de 500 001 à 600 000	2	1,8	-
7	de 600 001 à 700 000	1	0,9	-
8	de 700 001 à 800 000	2	1,8	-
9	de 800 001 à 900 000	3	2,8	-
10	de 900 001 à 1 000 000	1	0,9	-

b) Coliformes Totaux

Classes	Intervalles	Effectifs	% sur 109	%
1	de 1 à 10 000	28	25,6	-
2	de 10 001 à 20 000	24	22	-
3	de 20 001 à 30 000	25	23	-
4	de 30 001 à 40 000	11	10	-
5	de 40 001 à 50 000	10	9,2	-
6	de 50 001 à 60 000	2	1,8	-
7	de 60 001 à 70 000	3	2,8	-
8	de 70 001 à 80 000	2	1,8	-
9	de 80 001 à 90 000	0	0	-
10	de 90 001 à 100 000	2	1,8	-
	Non classé 150 000	2		

Tableau 8: Distribution des germes tests dans les produits finis fabriqués à l'usine de Yaoundé

c) Coliformes Thermotolérants

Classes	Intervalles	Effectifs	% sur 109	% sur 94
1	de 1 à 1 000	35	32,1	37,2
2	de 1 001 à 2 000	7	6,4	7,4
3	de 2 001 à 3 000	16	14,6	17,1
4	de 3 001 à 4 000	4	3,6	4,2
5	de 4 001 à 5 000	11	10,1	11,7
6	de 5 001 à 6 000	5	4,6	5,4
7	de 6 001 à 7 000	3	2,8	3,2
8	de 7 001 à 8 000	5	4,6	5,4
9	de 8 001 à 9 000	1	0,9	1
10	de 9 001 à 10 000	3	2,8	3,2
11	de 10 001 à 11 000	0	0	0
12	de 11 001 à 12 000	1	0,9	1
	Non classé			
	15 000	2		
	25 000	1		

d) Streptocoques Fécaux

Classes	Intervalles	Effectifs	% sur 109	% sur 80
1	de 1 à 1 000	9	8,3	11,3
2	de 1 001 à 2 000	19	17,4	23,8
3	de 2 001 à 3 000	10	9,1	12,6
4	de 3 001 à 4 000	8	7,3	10
5	de 4 001 à 5 000	8	7,3	10
6	de 5 001 à 6 000	2	1,8	2,5
7	de 6 001 à 7 000	1	0,9	1,2
8	de 7 001 à 8 000	5	4,6	6,2
9	de 8 001 à 9 000	0	0	0
10	de 9 001 à 10 000	12	11	15
11	de 10 001 à 11 000	1	0,9	1,2
12	de 11 001 à 12 000	0	0	0
	de 12 001 à 13 000	0	0	0
	Non classé			
	15 000	1		
	20 000	4		

Tableau 8 (suite): Distribution des germes tests dans les produits finis fabriqués à l'usine de Yaoundé

e) *Staphylococcus aureus*

Classes	Intervalles	Effectifs	% sur 109	% sur 56
1	de 1 à 500	13	11,9	23,2
2	de 501 à 1 000	11	10	19,6
3	de 1 001 à 1 500	17	15,6	30,3
4	de 1 501 à 2 000	0	0	0
5	de 2 001 à 2 500	2	1,8	3,6
6	de 2 501 à 3 000	2	1,8	3,6
7	de 3 001 à 3 500	0	0	0
8	de 3 501 à 4 000	2	1,8	3,6
9	de 4 001 à 4 500	0	0	0
10	de 4 501 à 5 000	5	4,6	8,9
11	de 5 001 à 5 500	1	0,9	1,8
12	de 5 501 à 6 000	1	0,9	1,8
13	de 6 001 à 6 500	0	0	0
14	de 6 501 à 7 000	1	0,9	1,8
	Non classé 15 000	1		

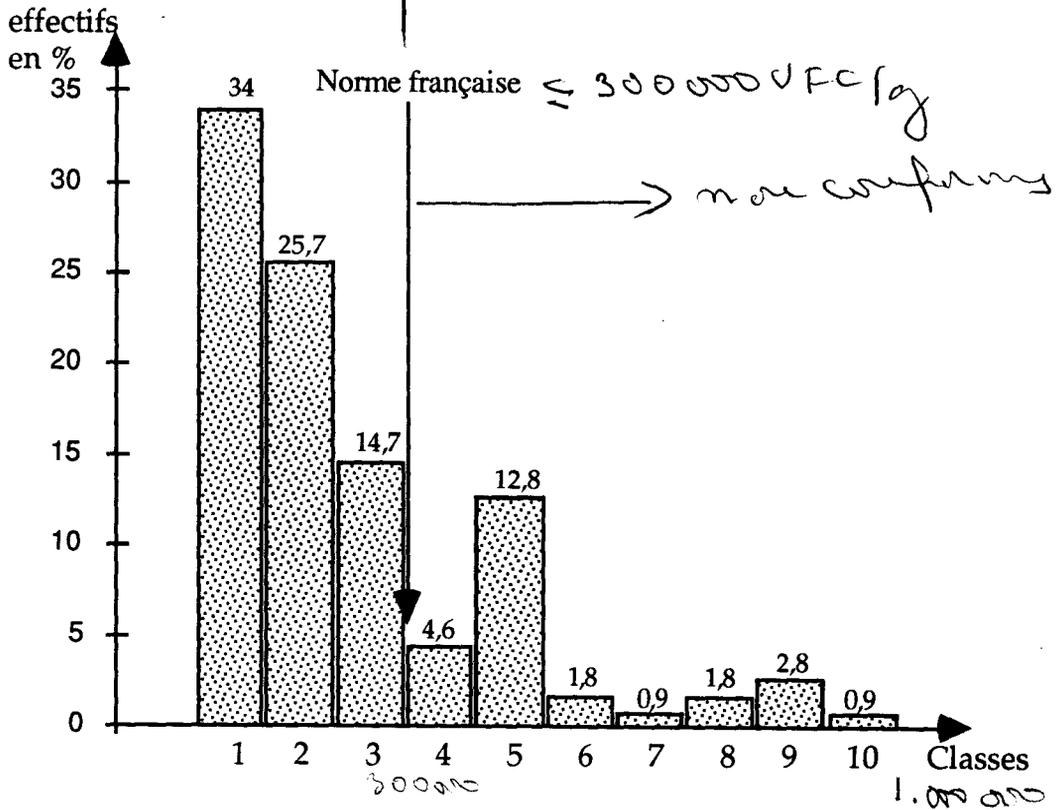
Tableau 8 (suite): Distribution des germes tests dans les produits finis fabriqués à l'usine de Yaoundé

2. 3. 2. 1. *Germes mésophiles aérobies*

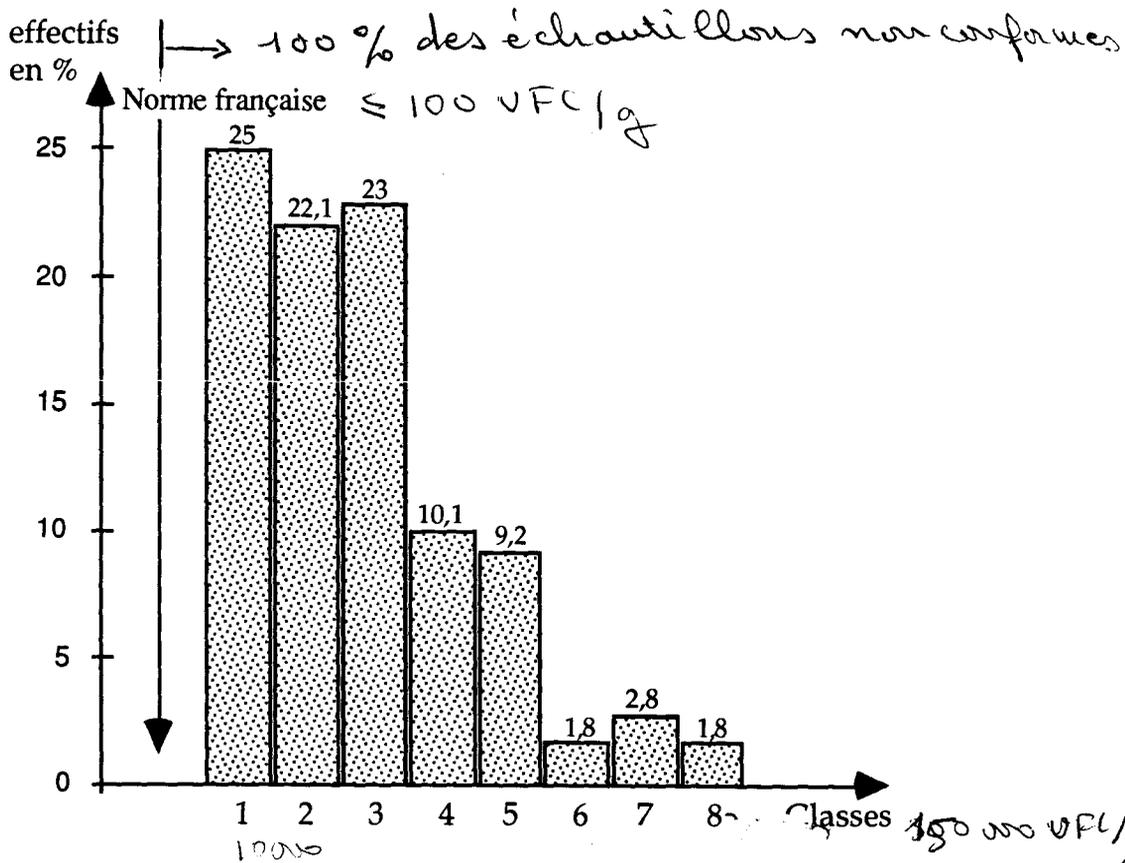
Il ressort de ce tableau que les effectifs des populations des germes mésophiles aérobies sont compris entre 10^4 et 10^6 UFC/g. L'étude de la distribution de ces germes dans les produits finis indique que 74,4 % de ceux-ci renferment un nombre de germes inférieur ou égal à 3×10^5 UFC/g. Le détail de la répartition à l'intérieur de ce groupe est donné dans le tableau 8. Ce tableau indique par ailleurs que 91,7 % des glaces et crèmes glacées étudiées contiennent un nombre de germes mésophiles inférieur ou égal à 5×10^5 UFC/g, 9 échantillons renferment un nombre de germes plus élevé.

La figure 3a illustre la distribution des germes mésophiles aérobies dans les produits étudiés.

24,4 % des échantillons conformes



a) Germes mésophiles aérobies



b) Coliformes totaux

Figure 3: Distribution des germes aérobies mésophiles a) et des coliformes totaux b) dans les produits finis à l'usine de Yaoundé

2. 3. 2. 2. *Coliformes totaux*

On dénombre de 250 UFC/g à 15×10^4 UFC/g coliformes selon les produits, qui se répartissent en trois groupes pour ce facteur:

Un premier groupe réunit les produits comportant jusqu'à 30×10^3 UFC/g ce groupe de loin le plus important, représente 70,6 % des produits finis étudiés. Il est suivi par un second groupe constituant 19,2 % des échantillons dont les effectifs des coliformes sont compris entre 30×10^3 UFC/g et 50×10^3 UFC/g. Un troisième groupe enfin plus hétérogène, est formé par l'ensemble des échantillons dont les populations coliformes s'échelonnent de 54×10^3 UFC/g à 15×10^4 UFC/g.

La figure 3 b) visualise la distribution des coliformes totaux dans ces produits.

2. 3. 2. 3. *Coliformes thermotolérants*

94 des produits analysés renferment des germes appartenant à ce groupe. Les effectifs de ces germes varient de 15 UFC/g à 25×10^3 UFC/g. Leur distribution est présentée dans le tableau 8 (suite), une illustration en étant donnée à la figure 4a. Les valeurs obtenues, toutes supérieures aux valeurs admises, permettent de définir quatre groupes de produits, dont le premier, formé par les glaces et les crèmes glacées renfermant de 15 à 10×10^2 UFC/g, représente 37,2% des échantillons considérés. Le second groupe est constitué par les populations ayant des effectifs comprises entre 10×10^2 UFC/g et 4×10^3 UFC/g.

Le troisième groupe, quant à lui, comprend les produits hébergeant des populations de coliformes thermotolérants dont les effectifs évoluent entre 4×10^3 UFC/g et 8×10^3 UFC/g. Il se compose de 25 échantillons, soit 25,7% des produits concernés.

Le quatrième et dernier groupe enfin, rassemble les échantillons dont la teneur en coliformes thermotolérants est supérieure à 8×10^3 UFC/g. Il est remarquable par son hétérogénéité.

2. 3. 2. 4. *Streptocoques fécaux*

Les streptocoques fécaux ont été isolés dans 80 échantillons sur les 109 ayant fait l'objet de la présente étude. Comme pour les coliformes thermotolérants, une analyse comparée des résultats obtenus conduit à la définition de quatre catégories de produits :

Un premier groupe, hébergeant de 250 UFC/g à 10×10^2 UFC/g. Ce groupe représente 11,3 % des produits ;

Un second groupe réunissant les échantillons dont la teneur en ces germes est comprise entre 10×10^2 UFC/g et 3×10^3 UFC/g. C'est le groupe le plus important, avec 29 échantillons, soit 36,4 %.

Un troisième groupe fait de produits où l'on dénombre de 33×10^2 UFC/g à 8×10^3 UFC/g, il correspond à 29,9 % des produits auxquels il est fait référence.

Un quatrième groupe enfin, constitué par les produits comportant un nombre de germes supérieur à 8×10^3 UFC/g. Il s'agit en fait d'échantillons renfermant de 8×10^3 UFC/g à 20×10^3 UFC/g de streptocoques fécaux. Ce groupe peut être divisé en 2 sous-groupes, le premier, très homogène, comprend les produits hébergeant une population de dont les effectifs sont comprises entre 9×10^3 UFC/g et 10×10^3 UFC/g ; le second sous-groupe renferme deux fois moins de germes. La figure 4b rend compte de la distribution des streptocoques fécaux dans les glaces et crèmes glacées étudiées.

2. 3. 2. 5. *Les staphylocoques pathogènes*

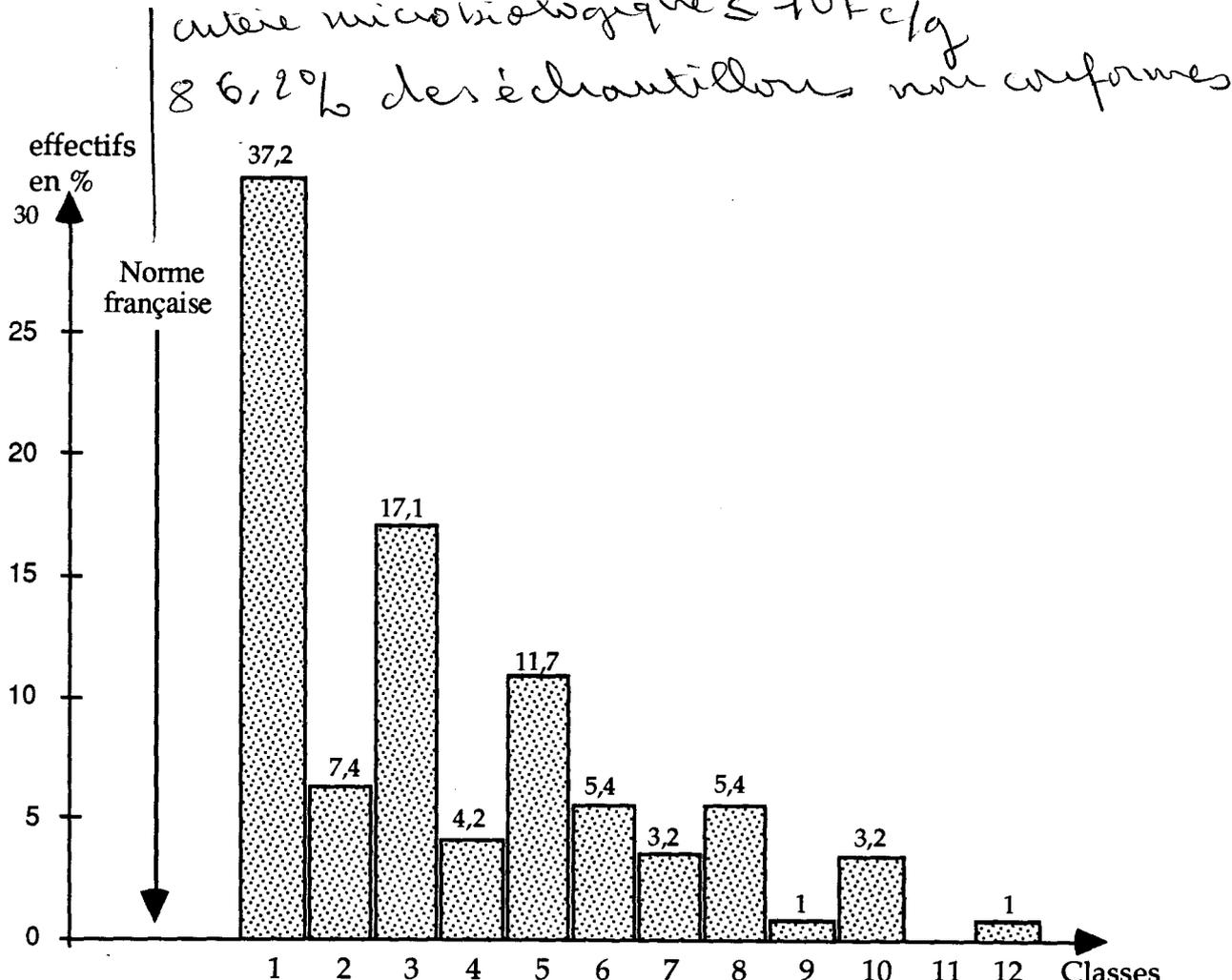
56 échantillons des produits analysés hébergent ces germes. Les effectifs de ces germes varient de 100 à 15×10^3 UFC/g et sont répartis en 2 groupes.

Le premier groupe de loin le plus important, formé par les glaces et crèmes glacées renfermant de 100 UFC/g à 15×10^2 UFC/g, représente 73,1 % des échantillons.

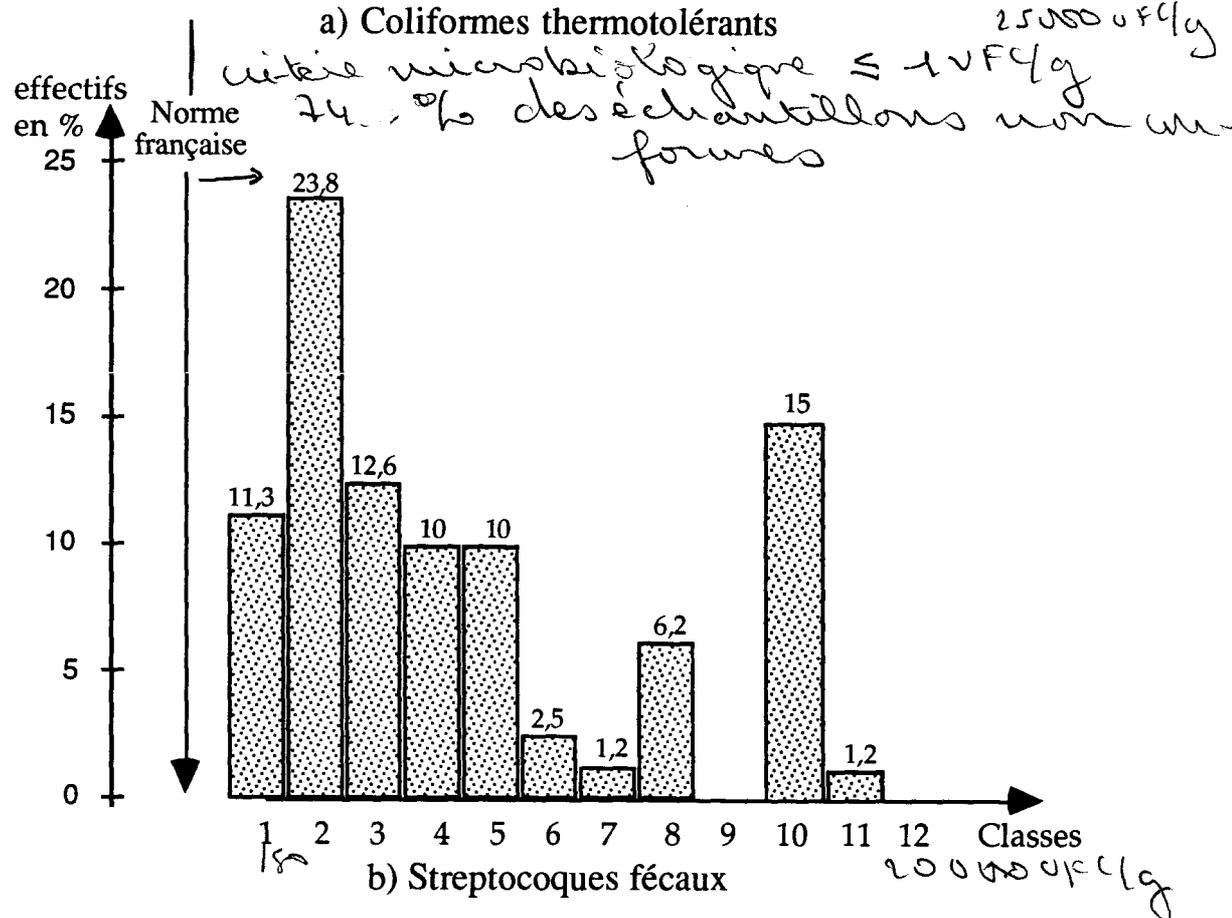
Le second groupe, plus hétérogène, est constitué par 13 échantillons dont les valeurs sont comprises entre 25×10^2 UFC/g et 7×10^3 UFC/g et qui forment 25,1 % des effectifs.

Un échantillon de valeur 15×10^3 UFC/g est non classé.

La figure 5 présente la distribution de ces germes dans les produits analysés.



a) Coliformes thermotolérants



b) Streptocoques fécaux

Figure 4: Distribution des coliformes thermotolérants a) et des streptocoques fécaux b) dans les produits finis fabriqués à l'usine de Yaoundé

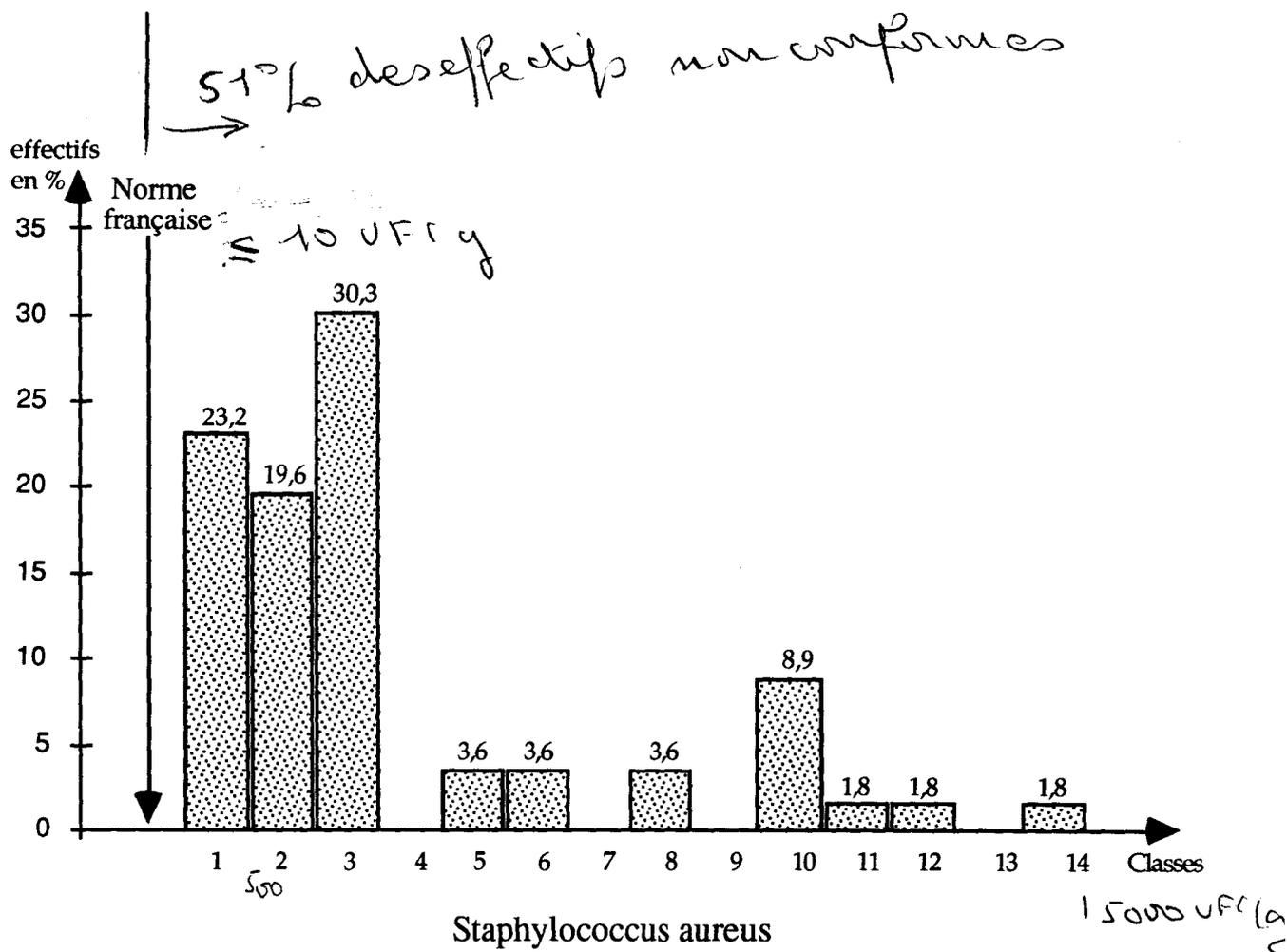


Figure 5: Distribution de *Staphylococcus aureus* dans les produits finis à l'usine de Yaoundé

3. Discussion

Les glaces et crèmes glacées produites dans cette usine sont fortement contaminées. Les souillures proviendraient:

3. 1. De l'eau de fabrication.

Celle-ci est en effet une eau de forage non traitée. Cette eau souterraine contient des germes de contamination (*Escherichia coli*, *Enterobacter cloacæ*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, des Streptocoques fécaux, des *Pseudomonas*) qui seraient dus à l'insuffisance du pouvoir de filtration des couches protectrices.

L'usine de Yaoundé ne dispose d'aucun système de traitement de cette eau de forage. La charge microbienne des produits finis demeure importante.

3. 2. Du lait et des autres ingrédients.

Les analyses ont montré que ceux-ci contiennent des coliformes totaux et thermotolérants dont *Escherichia coli*, des *Streptocoques fécaux*, *Staphylococcus aureus*, des *Pseudomonas*.

Certains germes (*Escherichia coli*, *Streptocoques fécaux*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*) sont les souillures de contamination fécale. Alors qu'avec le mélange fait avec les doigts munis de gants, la charge microbienne a diminué et les germes de contamination ont régressé voire sont inexistantes comme nous l'avons constaté précédemment.

La manipulation reste un problème préoccupant dans l'usine où les conditions d'hygiène ne sont pas suffisantes. Il peut y avoir contamination dangereuse par les germes parfois hautement pathogènes (*Shigella*, *Salmonella*) qui se retrouvent dans les produits finis et par la suite chez les consommateurs provoquant des intoxications alimentaires.

Il est souhaitable que dans les usines de fabrication semi-industrielle, les ouvriers puissent travailler avec des masques protégeant le nez et qu'ils portent des gants.

3. 3. Du matériel et des équipements utilisés dans la fabrication des glaces.

Après lavage et désinfection, ces derniers sont encore contaminés. et souillent les produits de la pesée jusqu'au stockage.

3. 4. De l'enceinte de l'usine non compartimentée et du personnel.

D'après Plusquellec et Leveau, (1980), l'air ambiant à l'intérieur de l'usine peut contribuer à l'apport des germes pendant la fabrication. Par ailleurs il est aussi nécessaire de prendre des dispositions pour s'opposer à la pénétration des insectes dans l'usine car ils peuvent transporter des germes dangereux (levures - moisissures) pouvant contaminer la fabrication; il en est de même pour la pénétration des rongeurs (rat, souris) porteurs de germes pathogènes pouvant visiter aussi bien les matières premières stockées que les produits fabriqués

3. 5. Enfin du personnel.

Par suite de la non observation des règles d'hygiène, le personnel s'appuie plusieurs fois par jour sur les murs intérieurs de l'usine et intervient aux différentes étapes de la fabrication.

4. ETUDE REALISEE SUR LES PRODUITS FINIS DE FABRICATION ARTISANALE

4. 1. Etude qualitative

Les résultats des analyses quantitatives qui ont été effectuées sur ces produits sont regroupés dans le tableau 9.

Sur 131 échantillons de glaces et de crèmes glacées de fabrication artisanale prélevés, les analyses révèlent que les coliformes totaux isolés dans les échantillons, sont constitués par les espèces suivantes:

Enterobacter cloacae , présente dans 46 échantillons, soit 35 % ;

Klebsiella pneumoniae , retrouvée dans 38 échantillons, soit 29 % ;

Proteus mirabilis , isolée dans 28 échantillons, soit 21 % ;

Citrobacter freundii , obtenue dans 26 échantillons, soit 20 %

Serratia marcescens et *Serratia rubidae*, identifiées respectivement dans 15 échantillons, soit (11,5%) et dans 4 échantillons, soit (3 %).

79 échantillons, soit (60 %) sont souillés par les coliformes thermotolérants dont *Escherichia coli*.

84 échantillons, soit (64 %) hébergent des streptocoques fécaux.

42 échantillons, soit (32 %) sont porteurs de *Staphylococcus aureus*.

Bacillus cereus est présent dans 32 échantillons, soit (24 %), et *Clostridium perfringens* , dans 36 échantillons, soit (27,5 %).

12 échantillons, soit (9 %) se sont avérés être porteurs de *Salmonella* dont 4 par *Salmonella typhimurium*, 3 *Salmonella infantis*, 2 par *Salmonella enteritidis*, 2 par *Salmonella salamae* et par 1 *Salmonella enterica*.

74 échantillons, soit (56,5%) contiennent des levures et des moisissures parmi lesquelles étaient présents : *Candida guilliermondii*, *C. parasilopsis*, *C. famata*, *C. tropicalis*, *Aspergillus niger* et des espèces non déterminées : *Cladosporium sp*, *Candida sp*.

4. 2. Etude quantitative

Le tableau 10 visualise la distribution des germes tests dans les produits finis de fabrication artisanale.

GAM	C.T	C.F	ST	STR	L.M	C.P	B.C	N°
18000	12000	0	0	0	0	2000	1000	1
64000	20000	9300	0	2000	0	100	0	2
78000	43000	7400	0	2750	0	1000	1500	3
35000	19000	0	0	180	0	0	0	4
98000	18000	700	0	390	0	0	0	5
35000	29000	990	0	100	0	0	0	6
37200	2240	140	3600	1000	1000	0	0	7
83000	31000	0	0	0	500	0	0	8
56000	11500	250	0	0	0	0	0	9
19000	9000	100	0	500	0	1000	1000	10
42000	28800	0	0	0	0	0	0	11
25000	8000	0	0	1900	0	1000	2000	12
15000	8000	0	1100	2500	3400	0	0	13
37200	12240	140	3000	1800	7000	0	0	14
16000	8000	0	0	0	2500	0	0	15
15000	4000	0	0	1200	3500	0	0	16
32000	12000	0	1000	4000	4000	0	100	17
245000	225000	415	1150	0	0	0	0	18
315000	23500	0	0	0	0	0	0	19
50000	15000	1000	0	0	0	0	0	20
165000	60000	1150	500	1500	1000	1500	3000	21
200000	70000	1000	0	0	3000	500	0	22
570000	35000	1500	5000	0	2500	1000	5000	23
150000	20000	2000	0	1500	0	0	0	24
100000	26000	2000	1000	1000	0	0	0	25
200000	25000	1300	1000	2500	5000	0	0	26
50000	15000	1000	0	2000	1000	0	0	27
80000	24000	1540	1600	150	0	100	0	28
175000	18700	60	1050	1000	0	100	500	29
160000	19500	80	1070	1050	0	0	0	30
95000	50000	40	0	0	0	0	0	31
200000	30000	0	300	300	1300	0	0	32
122000	11600	0	0	4000	1500	0	0	33
175000	18700	60	800	1000	0	0	0	34
100000	33500	115	2100	900	10000	0	0	35
200000	67000	125	1200	1800	10000	0	0	36
180000	15150	1000	0	20000	10000	0	0	37
205000	17500	350	2500	0	2500	0	0	38
380000	150000	750	0	0	5000	0	0	39
567000	80000	0	0	0	5000	1000	0	40
235000	10000	1000	0	1500	0	1000	2000	41
170000	14000	1540	1500	16000	2500	0	0	42
195000	50000	400	0	0	0	0	0	43
240000	195000	0	0	0	0	0	0	44
225000	135000	0	0	0	0	5000	5000	45

Tableau 9 : Les résultats des analyses effectuées sur les produits finis de fabrication artisanale

300000	80000	5000	2500	2500	500	1000	0	46
440000	245000	100	5000	500	10000	1000	1000	47
600000	215000	5000	250	650	5000	5000	0	48
260000	130000	0	500	1500	0	0	1000	49
160000	80000	0	1400	750	1000	0	0	50
900000	143500	2250	3000	1000	3000	3000	0	51
540000	300000	1000	500	2500	0	0	6000	52
200000	95000	1300	1000	2500	8000	0	0	53
100000	57500	350	2500	5000	0	0	500	54
250000	90000	0	0	0	0	0	0	55
150000	71000	2020	500	550	0	100	0	56
135000	85000	4000	300	2500	0	1000	100	57
500000	80000	0	0	0	0	0	500	58
150000	75000	0	0	0	0	0	0	59
256000	131000	560	4400	8500	5700	0	0	60
277000	93500	1090	390	7200	5000	0	0	61
218000	80000	0	0	0	0	0	0	62
600000	140000	0	0	0	0	0	0	63
180000	95300	0	3300	0	0	0	0	64
119000	81000	0	0	0	0	0	0	65
180000	95000	0	0	0	0	0	0	66
190000	75000	0	0	5000	0	0	0	67
171000	83500	0	0	3200	1000	0	0	68
156000	45000	112	880	2700	0	0	0	69
60000	37000	0	0	1000	0	0	0	70
145000	33500	175	0	0	0	0	0	71
265000	47500	0	0	7000	3200	0	0	72
190000	53500	0	0	0	0	1000	1500	73
240000	68000	2000	0	4000	2900	0	0	74
245000	83500	0	0	0	0	0	0	75
200000	87500	0	0	0	0	0	0	76
530000	120000	0	0	0	2500	0	0	77
160000	38000	900	0	250	5000	0	0	78
195000	63500	500	0	1500	0	0	0	79
375000	73750	750	0	0	0	1000	0	80
190000	67500	0	0	7000	3000	0	0	81
290000	18000	700	0	3900	10000	0	0	82
78000	17200	720	0	3000	0	0	0	83
104000	17000	1040	0	2100	0	0	0	84
175000	23000	0	0	3350	0	1000	0	85
178000	43000	7400	0	2750	0	1000	2000	86
550000	22500	1000	0	4000	0	0	0	87
290000	57000	540	0	2900	15000	0	0	88
780000	72000	1000	0	6000	10000	0	0	89
540000	35000	1740	2000	3000	5000	0	0	90
335000	30500	500	0	15000	0	0	0	91

Tableau 9 (suite) : Les résultats des analyses effectuées sur les produits finis de fabrication artisanale

182000	17500	1080	0	0	0	10000	0	92
95000	16000	1400	0	0	1000	1000	0	93
465000	2400	0	0	0	0	0	0	94
150000	50000	1600	0	9000	2000	0	0	95
425000	15000	1750	0	3750	50000	1000	3000	96
200000	92000	0	0	3750	3000	0	0	97
85000	51500	0	0	0	0	0	0	98
370000	175000	0	0	10000	0	0	0	99
144000	23500	2800	0	0	1000	2000	1000	100
180000	30000	3000	0	2500	6000	0	0	101
500000	50000	500	0	5000	0	500	500	102
370000	117000	0	0	0	0	0	0	103
250000	50000	0	0	1900	0	500	0	104
320000	25000	0	1000	4000	4000	0	0	105
150000	10000	0	1100	2500	3400	0	0	106
205000	19500	350	2500	0	2500	0	0	107
324000	17400	0	0	2440	0	0	0	108
372000	224000	140	3600	18600	7000	0	0	109
145000	13500	175	0	2000	0	0	0	110
360000	17500	35	0	2000	2100	2000	1000	111
150000	40000	0	0	1200	3500	0	500	112
160000	36500	1750	0	350	0	0	0	113
87500	17500	100	0	0	0	0	100	114
325000	130500	500	0	15000	0	0	0	115
820000	175000	1650	0	0	0	1000	2500	116
950000	260000	1400	0	10000	0	1000	3000	117
465000	224000	0	0	0	0	0	0	118
530000	172500	0	0	8000	0	0	0	119
425000	115000	1750	0	37500	15000	1000	3000	120
200000	90000	0	0	25000	7500	1000	4000	121
200000	92000	0	0	10000	3000	0	0	122
700000	116000	2800	0	0	0	1000	2000	123
205000	135000	0	0	0	0	0	0	124
550000	122500	1000	0	0	0	0	0	125
650000	130000	0	0	0	10000	0	0	126
850000	230000	750	2500	15000	0	0	8000	127
185000	135000	2500	7500	0	0	0	0	128
700000	140000	5650	8000	5000	12000	0	0	129
540000	235000	1740	1200	10000	10000	0	3500	130
225000	160000	0	0	7500	0	0	0	131

Tableau 9 (suite) : Les résultats des analyses effectuées sur les produits finis de fabrication artisanale

a) Germes Mésophiles Aérobie

Classes	Intervalles	Effectifs	% sur 131	%
1	de 1 à 100 000	29	22	-
2	de 100 001 à 200 000	45	34,3	-
3	de 200 001 à 300 000	20	15,2	-
4	de 300 001 à 400 000	11	8,4	-
5	de 400 001 à 500 000	7	5,4	-
6	de 500 001 à 600 000	11	5,4	-
7	de 600 001 à 700 000	3	2,3	-
8	de 700 001 à 800 000	1	0,8	-
9	de 800 001 à 900 000	3	2,3	-
10	de 900 001 à 1 000 000	1	0,8	-

b) Coliformes Totaux

Classes	Intervalles	Effectifs	% sur 131	%
1	de 1 à 30 000	48	36,6	-
2	de 30 001 à 60 000	24	18,3	-
3	de 60 001 à 90 000	22	16,8	-
4	de 90 001 à 120 000	10	7,6	-
5	de 120 001 à 150 000	13	10	-
6	de 150 001 à 180 000	4	3	-
7	de 180 001 à 210 000	1	0,8	-
8	de 210 001 à 240 000	6	4,6	-
9	de 240 001 à 270 000	2	1,5	-
10	de 270 001 à 300 000	1	0,8	-

Tableau 10: Distribution des germes tests dans les produits finis de fabrication artisanale

c) Coliformes thermotolérants

Classes	Intervalles	Effectifs	% sur 131	% sur 79
1	de 1 à 500	26	20	33
2	de 501 à 1 000	19	14,5	24
3	de 1 001 à 1 500	9	6,9	11,3
4	de 1 501 à 2 000	12	9,2	15,2
5	de 2 001 à 2 500	3	2,3	3,8
6	de 2 501 à 3 000	3	2,3	3,8
7	de 3 001 à 3 500	0	0	0
8	de 3 501 à 4 000	1	0,8	1,3
9	de 4 001 à 4 500	2	1,5	2,5
10	de 4 501 à 5 000	0	0	0
11	de 5 001 à 5 500	0	0	0
12	de 5 501 à 6 000	1	0,8	1,3
13	de 6 001 à 6 500	0	0	0
14	de 6 501 à 7 000	0	0	0
15	de 7 001 à 7 500	2	1,5	2,5
16	de 7 501 à 8 000	0	0	0
17	de 8 001 à 8 500	0	0	0
18	de 8 501 à 9 000	0	0	0
19	de 9 001 à 9 500	1	0,8	1,3

Tableau 10 (suite) : Distribution des germes tests dans les produits finis de fabrication artisanale

d) Streptocoques Fécaux

Classes	Intervalles	Effectifs	% sur 131	% sur 84
1	de 1 à 2 500	45	34,3	53,5
2	de 2 501 à 5 000	19	14,5	22,6
3	de 5 001 à 7 500	5	3,8	6
4	de 7 501 à 10 000	7	5,3	8,2
5	de 10 001 à 12 500	0	0	0
6	de 12 501 à 15 000	3	2,3	3,6
7	de 15 001 à 17 500	1	0,8	1,3
8	de 17 501 à 20 000	2	1,5	2,4
	Non classés			
	25 000	1		
	37 500	1		

e) Staphylococcus aureus

Classes	Intervalles	Effectifs	% sur 131	% sur 42
1	de 1 à 1 000	15	11,4	35,7
2	de 1 001 à 2 000	11	8,4	26,1
3	de 2 001 à 3 000	7	5,3	16,7
4	de 3 001 à 4 000	3	2,3	7,2
5	de 3 001 à 4 000	3	2,3	7,2
6	de 5 001 à 6 000	0	0	0
7	de 6 001 à 7 000	0	0	0
	Non classés			
	7 500	1		
	8 000	1		

Tableau 10 (suite) : Distribution de germes tests dans les produits finis de fabrication artisanale

4. 2. 1. Germes mésophiles aérobies

On dénombre de 15×10^3 UFC/g à 95×10^4 UFC/g de germes mésophiles aérobies selon les produits, se répartissant en 3 groupes pour ce facteur. Un premier groupe réunit les produits jusqu'à 38×10^4 UFC/g. Ce groupe de loin le plus important représente 79,9 % des produits finis étudiés. Il est suivi d'un second groupe dont les effectifs en germes aérobies sont compris entre 425×10^3 UFC/g et 6×10^5 UFC/g. Soit 12,8 % des effectifs. Un troisième groupe est formé par l'ensemble des échantillons dont les populations s'échelonnent de 65×10^4 UFC/g à 95×10^4 UFC/g.

La figure 6a visualise la distribution de ces germes dans les produits finis.
effectifs en %

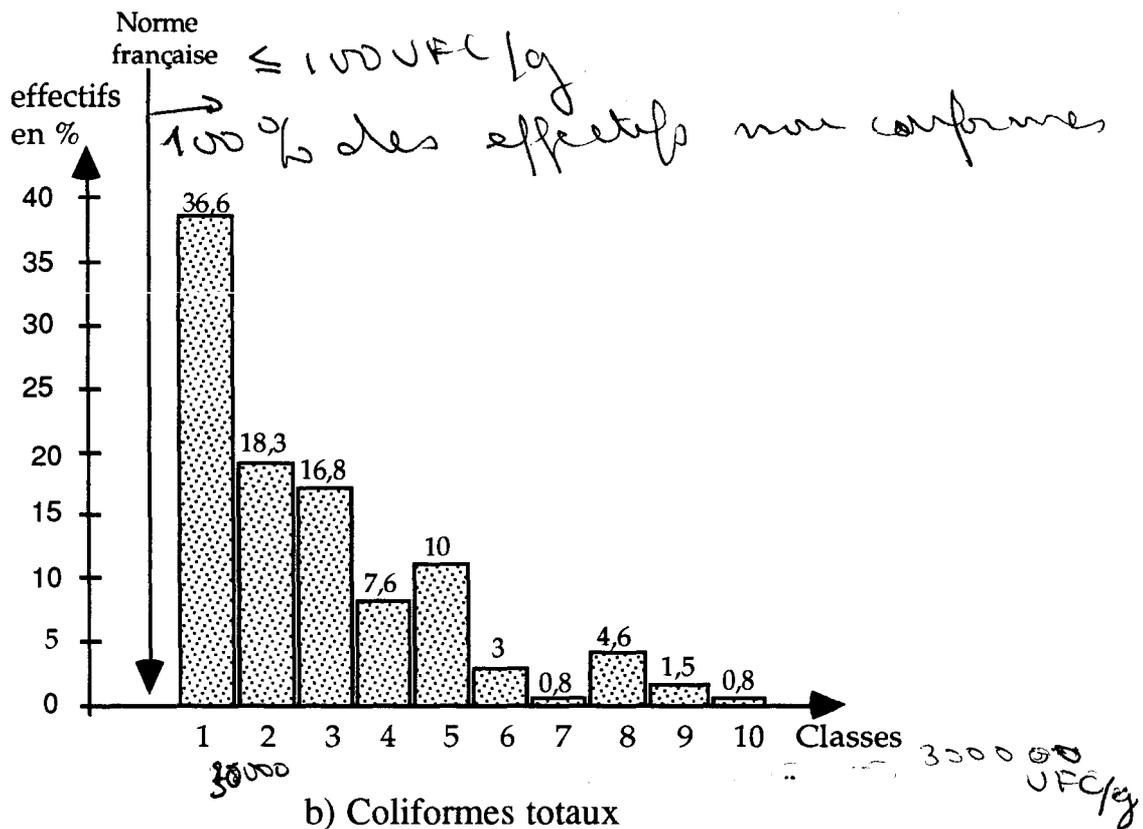
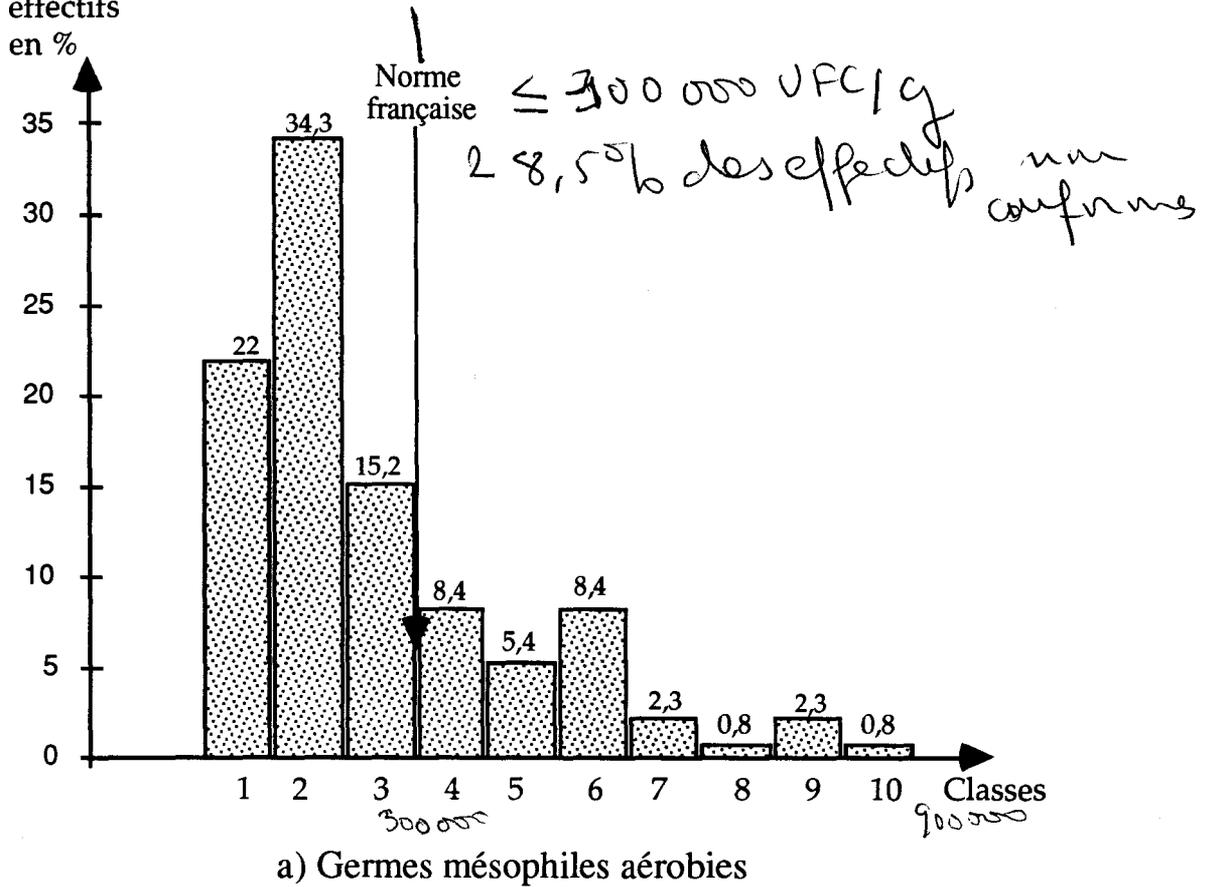


Figure 6: Distribution des germes aérobies mésophiles a) et des coliformes totaux b) dans les produits finis de fabrication artisanale

4. 2. 2. *Coliformes totaux*

Les effectifs des populations des coliformes totaux sont compris entre 2240 UFC/g et 30×10^4 UFC/g. L'étude de la distribution de ces germes dans les produits finis indique que 71,7 % de ceux-ci renferment un nombre de germes inférieur à 9×10^4 UFC/g et constituant le premier groupe. Un second groupe représentant 17,6 % de ces produits est constitué par des populations comprises entre 92×10^3 UFC/g et 15×10^4 UFC/g. Enfin, un troisième groupe plus hétérogène est formé par l'ensemble des populations de coliformes évoluant de 16×10^4 UFC/g à 30×10^4 UFC/g.

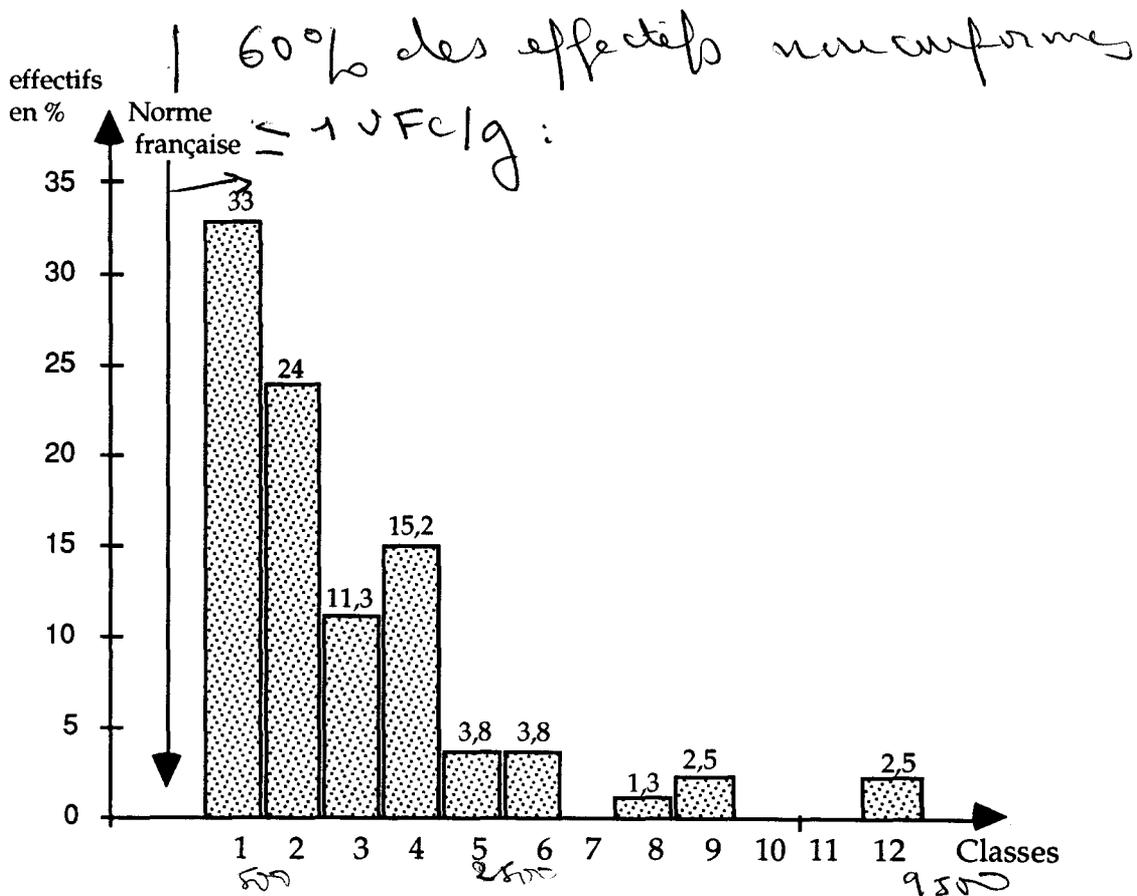
La figure 6b indique la distribution de ces coliformes totaux dans les produits étudiés.

4. 2. 3. *Coliformes thermotolérants*

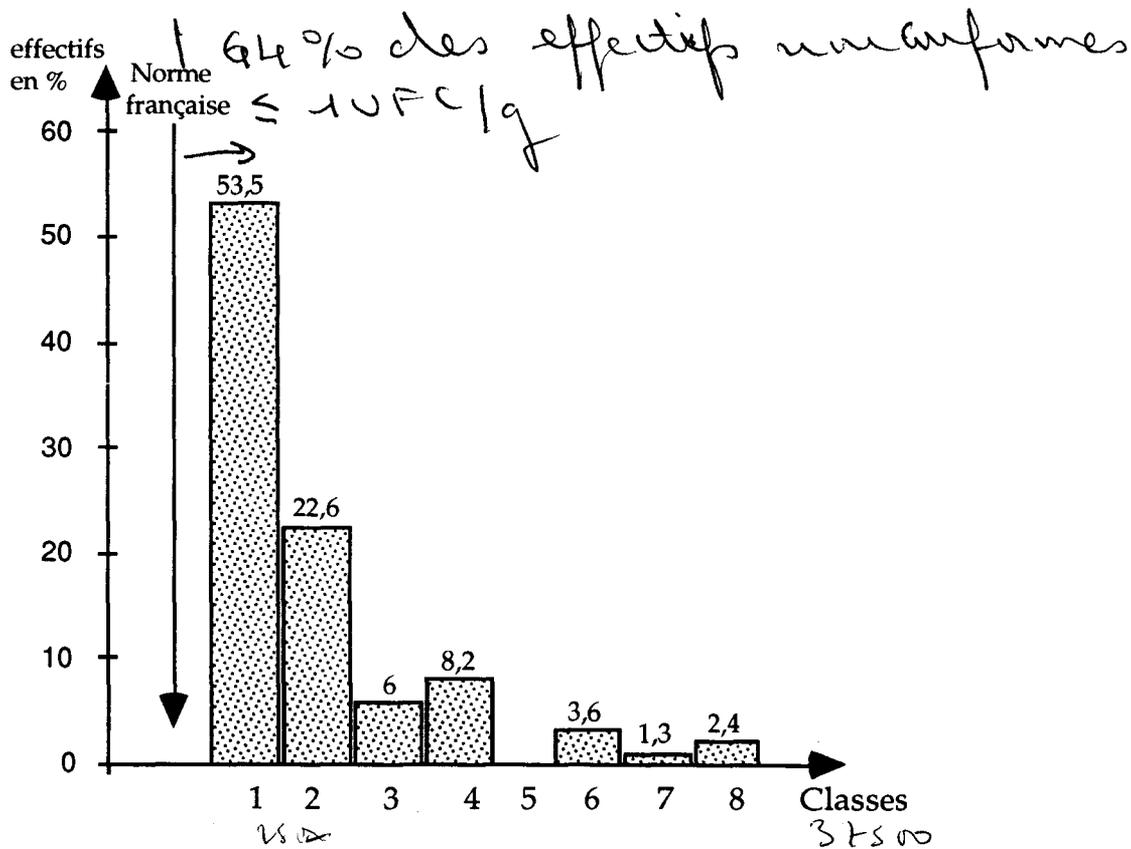
60,3 % des produits analysés renferment les coliformes thermotolérants. Les effectifs de ces germes varient de 35 UFC/g à 93×10^2 UFC/g. Leur distribution est présentée dans le tableau 10. Les valeurs obtenues permettent de définir 3 groupes dont le premier plus homogène renfermant les populations de 35 UFC/g à 20×10^2 UFC/g, représente 83,5 % des échantillons considérés.

Dans le deuxième groupe, la teneur en germes est comprise entre 20 UFC/g et 45×10^2 UFC/g. Il est constitué de 11,4 % des échantillons. Le troisième groupe quant à lui héberge des populations hétérogènes évoluant de 50×10^2 UFC/g à 93×10^2 UFC/g.

La figure 7a visualise la distribution de ces germes.



a) Coliformes thermotolérants



b) Streptocoques fécaux

Figure 7: Distribution des coliformes thermotolérants a) et streptocoques fécaux b) dans les produits finis de fabrication artisanale

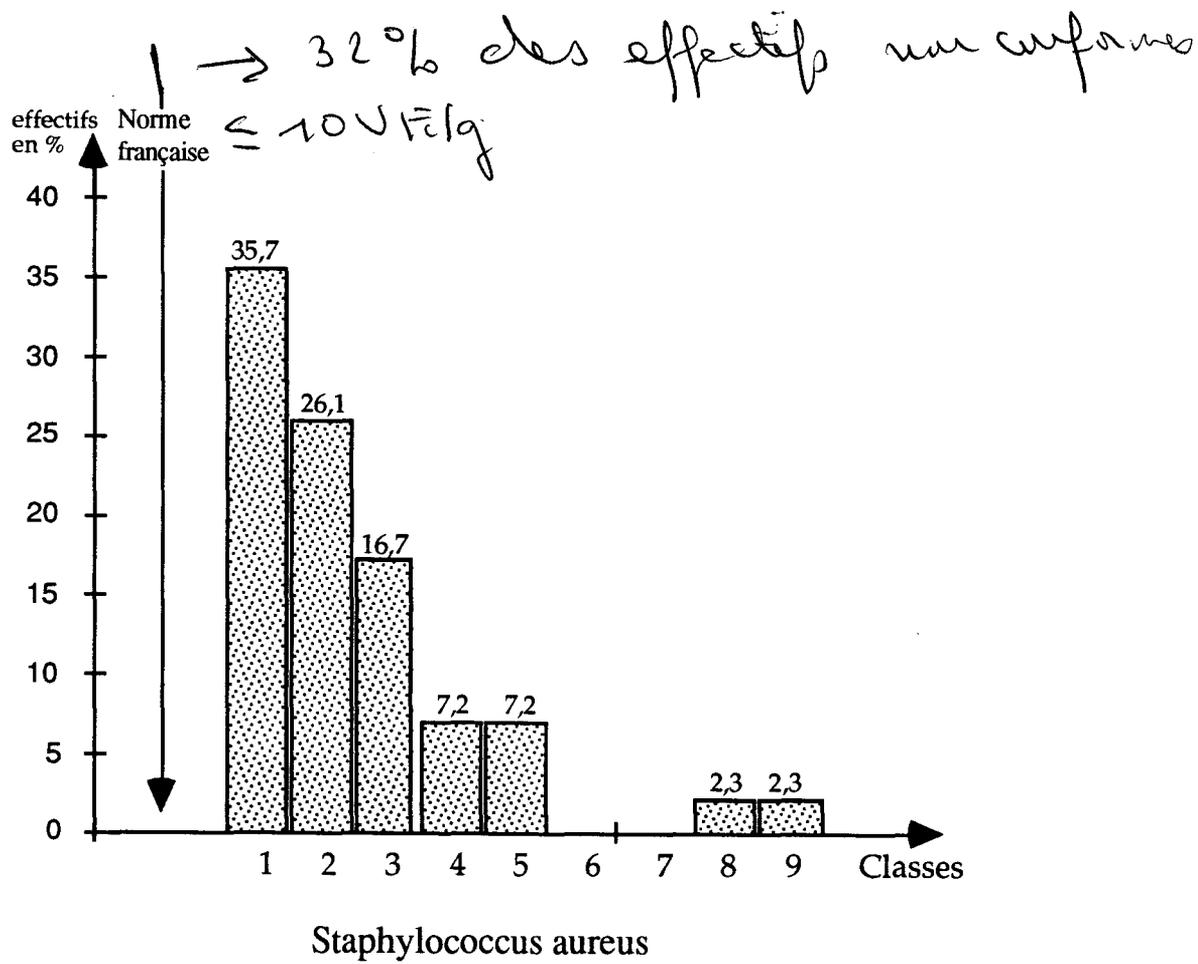


Figure 8: Distribution de *Staphylococcus aureus* dans les produits finis de fabrication artisanale

4. 2. 4 Streptocoques fécaux

Ces germes ont été isolés dans 84 échantillons sur 131 ayant fait l'objet de la présente étude. On dénombre de 1×10^2 UFC/g à 375×10^2 UFC/g de Streptocoques fécaux répartis en trois groupes.

Un premier groupe représentant 76,1 % des produits hébergeant des populations dont les valeurs sont comprises entre 100 UFC/g et 75×10^2 UFC/g.

Un second groupe réunit les 18 échantillons dont les valeurs évoluent de 8×10^3 UFC/g à 2×10^4 UFC/g et qui représentent 21,5 % des produits analysés.

Enfin, le troisième groupe est représenté par 2 échantillons non classés dont les valeurs sont de 250×10^2 UFC/g et 375×10^2 UFC/g.

La figure 7b illustre la distribution de ces germes.

4. 2. 5 Les Staphylocoques pathogènes

42 échantillons sur 131 produits analysés sont porteurs de Staphylocoques pathogènes représentés par des populations dont les valeurs comprises entre 250 UFC/g et 8×10^3 UFC/g se répartissent en 3 groupes.

Un premier groupe réunit les produits comportant jusqu'à 3×10^3 UFC/g. Ce groupe de loin le plus important représente 78,5 % des produits finis étudiés. Il est suivi par un second groupe composé de 6 échantillons dont les valeurs se situent entre 33×10^2 UFC/g et 50×10^2 UFC/g. Enfin deux valeurs non classés 75×10^2 UFC/g et 80×10^2 UFC/g constitue le troisième groupe.

La figure 8 présente la distribution des staphylocoques pathogènes dans ces produits.

5. ETUDE REALISEE SUR LES GLACES ET LES CREMES GLACEES D'IMPORTATION

5. 1. Etude qualitative

Les valeurs obtenues en UFC/g pour nos échantillons de glaces et crèmes ont été comparées avec celles de 30 échantillons de glaces et crèmes glacées, produits d'importation dont les résultats figurent dans le tableau 11.

Ces échantillons possèdent une faible charge microbienne constituée essentiellement de coliformes totaux présents dans 10 échantillons, soit 33%.

GMA	C.T.	C.F.	ST.	STR.F	L.M.	C.P.	B.C.	No
6000	80	0	0	0	0	0	0	1
320	0	0	0	0	0	0	0	2
320	0	0	0	0	0	0	0	3
3800	50	0	0	0	0	0	0	4
1600	30	0	0	0	0	0	0	5
1250	0	0	0	0	0	0	0	6
200	0	0	0	0	0	0	0	7
1500	30	0	0	0	0	0	0	8
150	0	0	0	0	0	0	0	9
300	10	0	0	0	0	0	0	10
3200	30	0	0	0	0	0	0	11
3100	0	0	0	0	0	0	0	12
500	0	0	0	0	0	0	0	13
1500	0	0	0	0	0	0	0	14
200	0	0	0	0	0	0	0	15
2050	15	0	0	0	0	0	0	16
600	10	0	0	0	0	0	0	17
3000	30	0	0	0	0	0	0	18
4500	80	0	0	0	0	0	0	19
300	0	0	0	0	0	0	0	20
1000	0	0	0	0	0	0	0	21
60	0	0	0	0	0	0	0	22
100	0	0	0	0	0	0	0	23
200	0	0	0	0	0	0	0	24
700	0	0	0	0	0	0	0	25
750	0	0	0	0	0	0	0	26
2500	0	0	0	0	0	0	0	27
1000	0	0	0	0	0	0	0	28
700	0	0	0	0	0	0	0	29
0	0	0	0	0	0	0	0	30

Tableau 11 : Résultats des analyses des produits finis d'importation

Ont été isolées les espèces suivantes:

Enterobacter cloacæ , présente dans 8 échantillons, soit 28%

Serratia marcescens , dans 3 échantillons, soit 10%.

Ces échantillons ne contiennent ni coliformes thermotolérants, ni streptocoques fécaux, ni *Staphylococcus aureus*, ni *Bacillus cereus*, ni *Clostridium perfringens*.

Pseudomonas putida a été également identifié dans 4 échantillons, soit 13%.

5. 2. Etude quantitative

La distribution des germes tests dans les produits finis d'importation est présentée dans le tableau 12.

a) Germes Mésophiles Aérobie

Classes	Intervalles	Effectifs	% sur 30	%
1	de 1 à 1 000	17	56,7	-
2	de 1 001 à 2 000	5	16,7	-
3	de 2 001 à 3 000	3	10	-
4	de 3 001 à 4 000	3	10	-
5	de 4 001 à 5 000	1	3,3	-
6	de 5 001 à 6 000	1	3,3	-

b) Coliformes Totaux

Classes	Intervalles	Effectifs	% sur 30	% sur 20
1	1 à 20	3	10	30
2	21 à 40	4	13,4	40
3	41 à 60	1	3,4	10
4	61 à 80	2	6,7	20

Tableau 12 : Distribution des germes tests dans les produits finis importés de fabrication industrielle.

5. 2. 1. germes mésophiles aérobies

Il ressort de ce tableau que les effectifs des populations des germes mésophiles aérobies sont comprises entre 60 UFC/g et 6×10^3 UFC/g.

L'étude de la distribution de ces germes dans les produits finis montre que 56,7 % de ceux-ci renferment un nombre de germes inférieur à 1×10^3 UFC/g et constituent un premier groupe de produits.

11 échantillons font parties du second groupe dont les effectifs de populations sont compris entre 10×10^2 UFC/g et 36×10^2 UFC/g, représentant 36,7 % des effectifs.

2 échantillons renferment un nombre de germes plus élevé et constitue le troisième groupe.

L'illustration de germes mésophiles aérobies est présentée dans la figure 9a.

5. 2. 2. Coliformes totaux

10 échantillons sur 30 hébergent des coliformes totaux. Les effectifs de populations de ces germes évoluent de 10 UFC/g à 80 UFC/g.

Leur distribution est visualisée par la figure 9b.

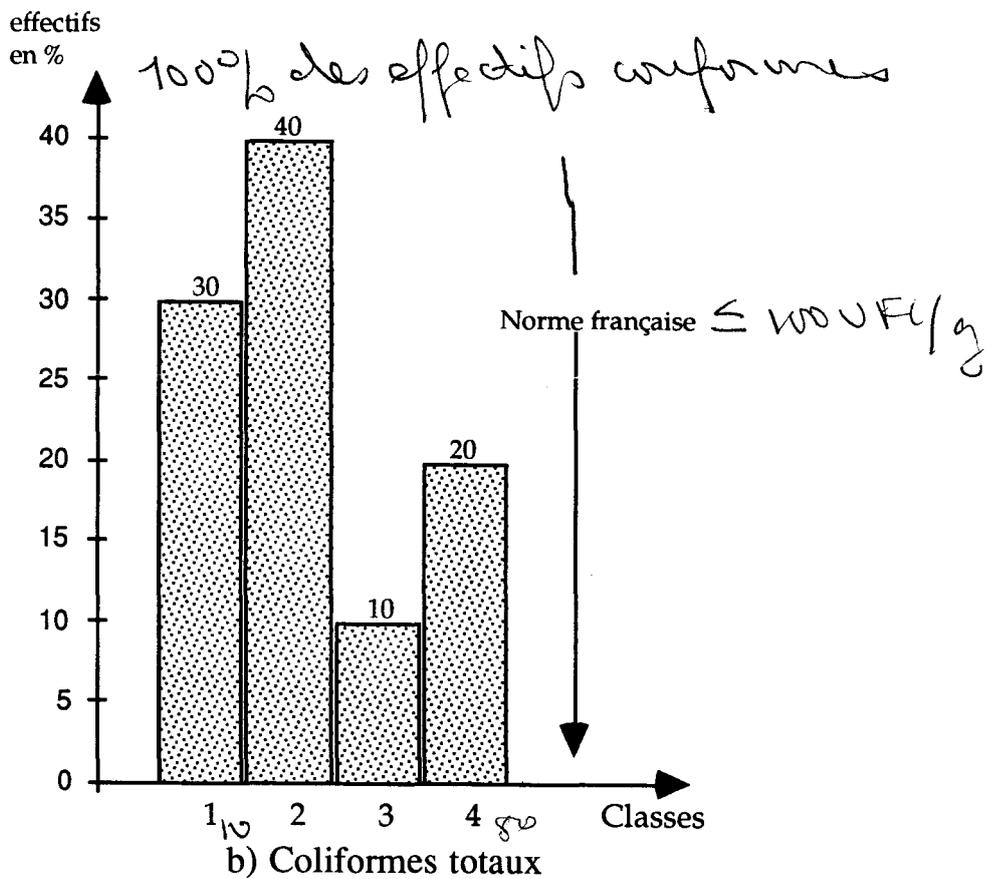
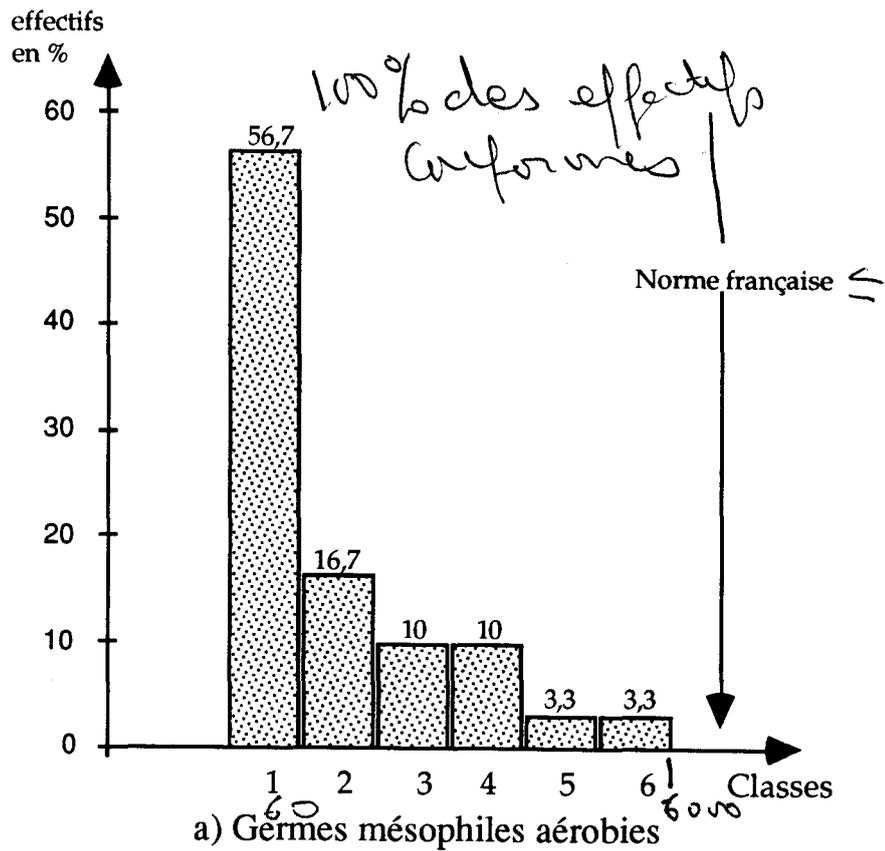


Figure 9: Distribution des germes mésophiles aérobies a) et des coliformes totaux b) dans les produits finis d'importation

Quatrième partie :

DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSION

1. DISCUSSION GENERALE

Pour contrôler les produits mis sur le marché, les critères d'appréciation de l'arrêté du ^{21 décembre 1979} du Journal Officiel de la République française ont été utilisés. L'article 7 de cet arrêté expose les critères microbiologiques relatifs aux laits fermentés, aux laits gélifiés, aux fromages frais pasteurisés, aux crèmes fraîches pasteurisées, aux glaces et crèmes glacées, aux caséines et caséinates. En ce qui concerne les glaces et les crèmes glacées, ces critères sont les suivants:

- micro-organismes aérobies (par gramme):	≤300.000
- coliformes (par gramme)	≤100
- coliformes fécaux (par gramme):	≤1
- Staphylocoques pathogènes (par gramme):	≤10
- <i>Salmonella</i> (dans 25 grammes):	absence.

L'association de ces critères microbiologiques conduit à un fort taux de produits non conformes aux normes dont la quasi totalité des échantillons analysés seraient impropres à la consommation.

Nous relevons un taux élevé de coliformes totaux dans les glaces de fabrication semi-industrielle des deux métropoles ainsi que dans les glaces de fabrication artisanale.

Plusieurs auteurs ont montré à la suite d'analyses qu'un pourcentage élevé des échantillons étudiés était fortement contaminé.

Moreno et *al.*, (1987), font ainsi observer au Laboratoire Municipal de Getafe (Espagne) que 37 échantillons sur 44 ne sont pas conformes aux normes.

De Centorbi et *al.*, (1989), en Argentine constatent quant à eux que la recherche de coliformes était positive pour tous les échantillons qu'ils avaient étudiés.

A Santa-Cruz de Tenerife (Espagne), seulement 5,7% des échantillons correspondaient aux normes standard de la législation espagnole (Marante et *al.*, (1989 . Mahanesh et *al.*, (1981), après avoir examiné les glaces et les crèmes glacées fabriquées dans la ville d'Amman en Jordanie, ont remarqué que le haut degré de contamination était probablement dû aux matériels souillés, aux conditions de travail peu hygiéniques durant la fabrication ou au stockage inadapté du mélange avant le foisonnement.

Ils avaient constaté que la présence d'un nombre important de micro-organismes pouvait contribuer à une forte incidence de gastro-entérites et de diarrhées tel que cela était observé à Amman durant l'été.

Compte tenu du fait que nos échantillons ont présenté un taux de germes très nettement au-dessus de ce que prévoit la législation française, notre discussion se fera pour chaque critère.

1. 1. FLORE MESOPHILE AEROBIE TOTALE (figures 1a, 3a, 6a, 9a)

D'après Bourgeois, (1980), cet ensemble englobe les micro-organismes pathogènes d'une part, divers micro-organismes d'altération d'autre part. Le dénombrement de la flore totale reste la meilleure méthode d'appréciation de la qualité microbiologique générale des aliments. Un aliment dont la flore microbienne est trop nombreuse est considéré comme impropre à la consommation. Il est à noter que certains micro-organismes qui ne sont pas habituellement considérés comme pathogènes tels que les *Proteus*, les *Bacillus*, les *Entérocoques*, les *Pseudomonas*, peuvent cependant engendrer des intoxications quand ils sont nombreux.

Par rapport à l'ensemble de nos produits, 21,6% sont non satisfaisants pour ce critère microbiologique.

Pour les glaces de fabrication semi-industrielle, celles produites à l'usine de Douala sont conformes à la norme; par contre pour l'usine de Yaoundé, 24,7% des échantillons ne répondent pas à ce critère.

Dans les glaces de fabrication artisanale, 29 % des produits analysés sont non conformes aux normes.

Par contre, les glaces et crèmes glacées de fabrication industrielle que nous avons analysées satisfont aux critères microbiologiques français.

Nos résultats sont comparables à ceux observés par Delia et Mauro (1980) en Italie où dans les usines de Messina, 24% des échantillons avait un nombre de germes plus important que les valeurs recommandées..

Massa et *al.*, (1989), à Bologne en Italie, avaient constaté lors de la surveillance bactériologique des glaces et crèmes glacées artisanales que celles-ci offraient moins de garantie du point de vue hygiénique que les glaces industrielles; ceci serait dû au manque de pasteurisation avant le foisonnement.

Cette attention particulière portée à la pasteurisation du mélange a été proposée par Stengel (1987), suite aux résultats obtenus lors des analyses des glaces à Berlin-Ouest en Allemagne.

1. 2. COLIFORMES TOTAUX *figures 1b, 3b, 6b, 9b)*

Bien que ces germes ne soient pas un indicateur de risque pour la santé du consommateur, la présence de ce groupe a été recherchée dans nos échantillons de glaces et crèmes glacées ainsi que dans la matière première, l'équipement et le personnel des usines. Nos produits sont fortement contaminés par ces germes puisque 100% des échantillons sont non conformes à la législation française pour ce paramètre. Les échantillons de fabrication industrielle importée, au contraire hébergent peu de germes et les valeurs répondent aux critères microbiologiques.

Enterobacter cloacae et *Pseudomonas aeruginosa* sont les germes les plus fréquemment rencontrés, que ce soit dans les glaces de fabrication semi-industrielle ou artisanale.

Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par un bon nombre d'auteurs:

Lim et *al.*, (1985), en Malaisie, après avoir analysé 200 échantillons de glaces, ont montré que les coliformes étaient présents dans 75% de leurs échantillons et que 3 de leurs produits étaient porteurs de *Salmonella*.

De Centorbi et *al.*, (1989), en Argentine, étudiant la qualité sanitaire des glaces, ont montré que les coliformes étaient présents dans tous les échantillons.

D'après Lahellec et Colin, (1980), les coliformes sont utilisés comme indicateurs d'hygiène dans les aliments; ils dégradent le lactose et produisent les acides. Par contre, les micro-organismes psychotropes tels que *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Aeromonas*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter* doivent surtout être considérés comme germes d'altération des produits: ils produisent une grande variété d'enzymes dont les lipases et protéases non détruites pendant la pasteurisation.

Dans ce groupe émergent les *Pseudomonas* pigmentés ou non. Ces germes sont retrouvés dans les eaux (nappes et réseaux de distribution) où leur présence est considérée comme indésirable du fait de leur pouvoir pathogène et de la présence éventuelle d'entérotoxine (Leclerc et Mossel, 1989).

Enfin, Moreno et *al.*, (1987), en Espagne, ont étudié les bactéries psychotropes des glaces et ont indiqué que 92% des échantillons étaient contaminés.

Ont été identifiés: *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Flavobacterium*, *Chromobacterium*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Serratia*.

Ces auteurs ont noté que la présence des bactéries psychotropes était importante pour déterminer la qualité des aliments conservés au froid.

En dehors de leur origine hydrique, ces germes proviendraient de la matière première (lait, additifs), de l'équipement (seaux et spatules souillés) ou du personnel; ce qui contribue à contaminer les glaces et crèmes glacées produites.

1. 3. SALMONELLA - SHIGELLA

1. 3. 1. Salmonella

La recherche des germes pathogènes *Salmonella* et *Shigella*, a révélé que 16 échantillons de glaces étaient porteurs de *Salmonella* répartis en 5 sérotypes.

4 *Salmonella* {*S. typhimurium* (2), *S. enteritidis* (2)}, provenaient des glaces de fabrication semi-industrielle de l'usine de Yaoundé utilisant l'eau de captage individuel.

12 *Salmonella* {*S. typhimurium* (4), *S. infantis* (3), *S. enteritidis* (2), *S. salamae* (2), *S. enterica* (1)} ont été isolés des glaces de fabrication artisanale.

Enfin dans les glaces de fabrication semi-industrielle de l'usine de Douala utilisant l'eau de distribution, aucune *Salmonella* n'a été isolée.

Certains auteurs ont recherché les *Salmonella* dans les produits alimentaires, notamment dans les produits laitiers (lait, glaces et crèmes glacées), dans les œufs ou suite à des intoxications alimentaires.

En 1984, Taylor et al., à Atlanta aux USA, suite à une intoxication alimentaire de 8 personnes avec décès d'un jeune enfant de 13 ans, montrèrent qu'ils avaient tous mangé une crème glacée de fabrication artisanale contaminée par des œufs contenant *Salmonella typhimurium*.

En Malaisie, Lim et al., (1985) ont retrouvé après analyse 1,5% de leurs échantillons de glaces porteurs de *Salmonella*.

D'après Saddik et al., (1985), au Caire en Egypte, les glaces peuvent être contaminées par des germes pathogènes (*Salmonella*) et servir de vecteurs à la transmission des maladies.

Al-Rajab Wafa et al (1986) ont recherché à partir de 400 échantillons de produits laitiers fabriqués localement la présence de *Salmonella*. Les échantillons positifs incluait les glaces (10%), le Kishfa (10%), le Gaymer (7,5%), le fromage (6,6%) et le yaourt (1,6%). 15 sérotypes furent identifiés dans les glaces avec une haute fréquence de *S. typhimurium* (28,1%) et *S. infantis* (12,5%). Les sérotypes provenant des glaces étaient *S. typhimurium* (4), *S. infantis* (2), *S. anatum* (2), *S. chester* (2), *S. saintpaul* (1), *S. non typé* (1).

En chine, Chen et al , (1989), ont décelé la présence de *Salmonella typhimurium* dans les glaces, crèmes glacées et les œufs ainsi que dans 5% d'eau polluée.

Cowden et al., 1989 ont rapporté qu'une intoxication à *Salmonella enteritidis* phage 4 était survenue à Londres (Angleterre). L'investigation révéla après analyse que les glaces vanille à base d'œufs non cuits fut la cause de l'infection.

Les produits laitiers et les ovoproduits, en particulier les glaces et crèmes glacées sont parmi les aliments largement consommés, une source importante de Salmonellose humaine. Cette infection est cause de gastro-entérites fébriles caractérisée par des diarrhées, des vomissements, pouvant être sévère voire fatale chez les jeunes enfants, les personnes âgées et les immuno déprimés.

Les *Salmonella* sont retrouvés aussi à l'état de portage chez l'homme et les animaux: les volailles, les bovins, les moutons et porcs. Elles figurent parmi les bactéries responsables de toxi-infections alimentaires. Les aliments les plus incriminés sont les viandes et produits carnés, les ovoproduits, les produits laitiers dont les glaces et crèmes glacées (Gledel, 1980; le Minor, 1981).

Selon Lahellec et al., 1992, de nombreuses observations ont montré le rôle possible du réservoir animal dans les affections dus aux *Salmonella* chez l'homme. Les inter contaminations homme, animal, de même que la circulation des différents sérovars de *Salmonella* dans l'environnement, ont été mis en évidence (Le Minor, 1981). Les problèmes liés à *S. enteritidis* ont mis en exergue la relation entre la contamination d'œufs par *S. enteritidis* et les cas de toxi-infections alimentaires collectives (Lahellec, 1992).

Le portage sain est extrêmement fréquent chez les animaux qui peuvent éventuellement contaminer l'homme directement ou indirectement. Chez les bovins, les sérovars les plus fréquents sont typhimurium (dont la prévalence est la plus forte à la fois en pathologie animale, hygiène alimentaire et dans l'environnement) et *Salmonella dublin*. Chez les volailles, les sérovars dominants sont *typhimurium*, *saint paul*, et *enteritidis*.

Les toxi-infections alimentaires sont dues principalement aux *Salmonella typhimurium* et *enteritidis* ces cinq dernières années (Buisson, 1992). Qu'elles surviennent en restauration collective ou familiale, une toxi-infection alimentaire se traduit toujours par une faute d'hygiène caractérisée, souvent commise au cours d'une des étapes de fabrication, de distribution, de conservation ou de préparation des aliments (Buisson, 1992).

Les *Salmonella* isolées de nos échantillons peuvent avoir plusieurs sources:

- les œufs servant à la préparation des bases de certaines glaces; bien qu'aucune *Salmonella* n'ait été retrouvée dans nos échantillons d'œufs;
- l'eau utilisée pour la fabrication des glaces:
 - dans l'usine de Douala se servant de l'eau de distribution, aucune *Salmonella* n'a été isolée;
 - dans l'usine de Yaoundé utilisant l'eau de captage, 4 *Salmonella* ont été identifiés;
 - dans les produits de fabrication artisanale où les fabricants utilisant soit l'eau de distribution, soit l'eau des réserves ou l'eau de puits 1 2 *Salmonella* ont été sérotypées.

Les eaux non traitées peuvent engendrer des gastro-entérites et de Salmonelloses. En 1991, une épidémie hydrique de *Salmonella enterica* a été isolée dans notre laboratoire du Centre Pasteur de Yaoundé à partir de l'eau de forage alimentant une usine employant 2.500 personnes dans la région de Douala. Cette souche fut sérotypée par le Service de l'Institut Pasteur de Paris.

Le problème d'hygiène reste posé, et le personnel pouvant être porteur de *Salmonella*. Toutefois un examen des selles n'a pas été effectué.

Les *Salmonella* sont des espèces pouvant être détruites en principe par des traitements thermiques et par la pasteurisation. Cependant la contamination peut être due à une mauvaise pasteurisation du lait ou du mélange ou due aux mauvaises conditions d'hygiène prévalant pendant la fabrication et au matériel contaminé.

1. 3. 2. *Shigella*

Ce germe n'a pas été isolé des échantillons de glaces. Cependant *Shigella flexneri* a été détecté dans certains laits reconstitués de l'usine de Yaoundé. Le lait en poudre après pesée, étant malaxé avec les doigts avant l'addition d'eau, il serait probable que le lait ait été contaminé lors de la manipulation (*Shigella* pouvant exister à l'état de portage chez l'homme) ou la contamination serait due à l'eau. En effet ce germe a été trouvé uniquement dans l'usine utilisant l'eau de forage non traitée.

Les prélèvements effectués sur les mains du personnel ne nous ont pas permis de détecter ce germe, il ne nous a pas été possible non plus de faire des analyses de selles du personnel.

1. 4. COLIFORMES THERMOTOLERANTS

(figures 2a, 4a, 7a)

Ce sont des coliformes qui sont capables de se multiplier à 44°C. Lorsqu'on se réfère à ce paramètre, on relève que:

- 67,21% des glaces d'usine de Douala,
- 86,2% des glaces d'usine de Yaoundé,
- 60,3% des glaces de fabrication artisanale ne sont pas conformes aux critères microbiologiques.

Les coliformes thermotolérants sont aussi retrouvés dans l'eau de captage individuel et dans le lait reconstitué.

Parmi ces coliformes thermotolérants sont distinguées les espèces du genre *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*. Leclerc et Mossel, (1989) ont montré que les coliformes thermotolérants sont représentés à plus de 99% par *Escherichia coli* et qu'il est probable qu'à la température de 44°C, les *E. coli* en présence d'autres coliformes thermotolérants aient un avantage de croissance.

Aussi ces germes sont considérés (Catsaras et Bourgeois, 1980; Leclerc et Mossel, 1989), comme indices de contamination fécale, c'est-à-dire que leur présence dans une eau ou un aliment fait penser qu'il y a eu au cours de leur préparation un défaut d'hygiène qui a conduit à une souillure par des matières fécales.

Pour Poumeyrol, (1990), le simple fait de retrouver *E. coli* dans les aliments, même en grand nombre, n'est pas suffisant pour conclure à l'existence d'une toxi-infection alimentaire provoquée par cette bactérie. Pour cet auteur, la plupart des *E. coli* rencontrés dans ces conditions sont des micro-organismes banals, certains seulement pouvant être pathogènes pour l'homme et provoquer des gastro-entérites.

Leclerc et Mossel, (1989), Poumeyrol, (1990), reconnaissent à cet effet plusieurs classes d'*E. coli* pathogènes entériques de l'homme:

- E. coli* entéro-pathogènes (ECEP): agent de gastro-entérites infantiles.
- E. coli* entérotoxinogènes (ECET) sécrétant une ou plusieurs entérotoxines et provoquant des diarrhées plus ou moins sévères.
- E. coli* entéroinvasifs (ECEI) responsables des maladies dysentériques.
- E. coli* entérohémorragiques (ECEH) provoquant des hémorragies au niveau de la muqueuse intestinale.
- E. coli* entéro-adhérents (ECEA) dont le pouvoir pathogène serait dû à la possession de facteurs d'adhésion.

1. 5. STREPTOCOQUES FECAUX

(figures 2b, 4b, 7b).

Ces germes ont été retrouvés en grande quantité dans nos produits avec une fréquence de:

- 32,8% pour les glaces provenant de l'usine de Douala;
- 74 % pour les glaces provenant de l'usine de Yaoundé;
- 64,1% pour les glaces de fabrication artisanale.

Ces germes sont fréquents dans l'intestin de l'homme et des animaux. Les streptocoques fécaux sont surtout utiles comme indicateurs de contamination fécale dans les eaux. Leur grande résistance et leur présence excessive dans les aliments sont signe d'un défaut d'hygiène de fabrication (Catsaras, 1980). Tel semble être le cas dans les fabrications de nos glaces, la contamination fécale peut provenir des eaux (eau de captage) ou de souillure humaine.

1. 6. STAPHYLOCOQUES PATHOGENES

(Figure 5 et 8)

Les glaces et crèmes produites à l'usine de Douala ne présentent aucune contamination par *Staphylococcus aureus*.

A l'opposé, 51% de glaces prélevées dans l'usine de Yaoundé et 32% de glaces de fabrication artisanale se sont révélées non conformes aux normes pour ce paramètre.

La présence de *Staphylococcus aureus* dans les glaces a déjà été signalée par plusieurs auteurs:

Mahanesh et al , (1981), ont isolé *Staphylococcus aureus* à partir de 24% des échantillons de glaces prélevés dans les restaurants, les supermarchés et chez les détaillants de la ville d'Amman.

Bastepe et al , (1981), ont identifié 25% d'échantillons porteurs de staphylocoques coagulase(+) dans les produits laitiers vendus à Ankara avec une forte contamination dans les glaces, mais un seul des staphylocoques était capable de sécréter l'entérotoxine.

Batish et Chander en 1987 ont démontré que tous les 50 échantillons de produits laitiers analysés étaient contaminés par *Staphylococcus aureus*, mais que dans un seul échantillon avait été détecté l'entérotoxine B.

Ces glaces de fabrication artisanale en Inde et au Pakistan sont des produits extrêmement vulnérables à la contamination microbienne. Bien que le staphylocoque peut être détruit par la chaleur dans les œufs, le lait et les glaces, la contamination serait postérieure à la pasteurisation à cause des mains non lavées ou le nez des vendeurs et détaillants manipulant ces produits (Batish et Chander, 1987). Tel serait le cas de nos échantillons de l'usine de Yaoundé où le produit est malaxé avec les mains ou des produits artisanaux fabriqués dans des cellules familiales avec de mauvaises conditions d'hygiène.

Le staphylocoque est l'une des bactéries les plus couramment rencontrées dans la nature, qu'il soit commensal, saprophyte ou pathogène. Il est retrouvé dans l'eau, dans l'air et dans le sol. Cependant, le réservoir principal reste l'homme et l'animal (Roosen et al., 1988). De ce fait, les aliments pourront facilement être contaminés, car sa présence est permanente ou intermittente chez l'homme en particulier au niveau du rhino-pharynx, de la peau des mains, et du tube digestif. Il est aussi responsable de toxi-infections alimentaires fréquentes et celles-ci sont dues à la production par la bactérie, d'entérotoxines thermostables dans l'aliment, (Roosen et al, 1988) . D'après ces auteurs, Buttiaux et al , (1969) ont classé les produits alimentaires le plus souvent en cause dans l'intoxication staphylococcique; ce sont les viandes, les crèmes glacées et les pâtisseries, les fromages, les laits en poudre et les laits concentrés sucrés.

Roosen et al, 1988, ont remarqué que les staphylocoques sont rencontrés le plus souvent dans les préparations alimentaires nécessitant de nombreuses manipulations de la part du personnel de cuisine. Ce fait est confirmé par l'étude de Blech et Coll (1983), dans laquelle il est montré que la présence intermittente de Staphylocoques toucherait environ 25% du personnel et que la proportion de porteurs chroniques serait de 11%.

D'après Leclerc et Mossel en 1989, l'intoxication staphylococcique survient après consommation d'aliments dans lesquels le staphylocoque s'est multiplié et a produit des toxines. Après un court délai d'incubation, les signes (vomissements et diarrhée) apparaissent brusquement. La durée des symptômes est habituellement de 30 heures.

Ces auteurs font remarquer que la production d'entérotoxines est le propre de certains isolats de *S. aureus*, coagulase (+) dits pathogènes, 60% de souches "pathogènes" d'origine humaine élaborent des entérotoxines, mais que certaines souches de staphylocoques coagulase (-) sont aussi capables de synthétiser des entérotoxines (Buttiaux et *al.*, 1969).

Gemmel et Dawson, (1982), ont en effet identifié 100 souches de staphylocoques coagulase(-), agents d'infections cliniques.

La recherche d'entérotoxine dans les souches isolées n'a pas été effectuée.

1. 7. LES ANAÉROBIES SULFITO-REDUCTEURS: LES GERMES *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS* ET *BACILLUS CEREUS*

Les résultats des analyses microbiologiques des bactéries sporulées et les anaérobies sulfitoréducteurs isolés des glaces et crèmes glacées se répartissent comme suit:

Usine de Douala:

- 16,3% de *Clostridium perfringens*
- 11,4% de *Bacillus cereus*

Usine de Yaoundé:

- 21% de *Clostridium perfringens*
- 25% de *Bacillus cereus*

Glaces de fabrication artisanale:

- 27,4% de *Clostridium perfringens*
- 24,4% de *Bacillus cereus*.

Leclerc et Mossel, (1989), ont établi que le *Clostridium perfringens* est un germe tellurique, sporulé et thermorésistant. L'enterotoxine est produite par les types A, C et D. Le type A est responsable de toxi-infections alimentaires caractérisées par des douleurs abdominales, des diarrhées, des nausées. Les symptômes apparaissent après ingestion d'aliments fortement contaminés La forme sévère reconnue sous le nom d'entérocolite nécrosante est causée par le type C.

Le *Clostridium perfringens* isolé de nos échantillons pourrait provenir de la matière première (l'eau, lait, les additifs), et de l'enceinte de l'usine.

Il en est de même pour le *Bacillus cereus*, germe tellurique isolé des poussières, des végétaux, des matières fécales humaines et animales et de l'eau. Ce germe peut contaminer les aliments très variés: légumes, produits de charcuterie, les produits laitiers et en particulier les glaces et les crèmes glacées. Ses spores thermorésistantes lui permettent de subsister dans les aliments (Multon, 1975). La quantité de bactéries nécessaires à l'apparition de toxi-infection alimentaire est assez élevée (10^4 à 10^6 bactéries par gramme d'aliment, Poumeyrol, 1990).

D'après Dromingny et *al.*, 1988, ce germe fut reconnu comme étant la 3^e cause des toxi-infections alimentaires.

Poumeyrol, en 1990, décrit deux types de syndromes de toxi-infections alimentaires pouvant se présenter, chacune produisant une toxine différente:

- une toxine diarrhéigène pouvant être sécrétée. Cette toxine entraîne des symptômes qui rappellent ceux provoqués par *Cl. perfringens*. Est observée une diarrhée aqueuse avec des crampes abdominales, sans fièvre; des nausées peuvent persister mais les vomissements sont rares. Le délai d'apparition après le repas contaminant varie de 6 à 15 heures et la maladie ne dure pas plus de 24 heures;

- une toxine émétisante dont les symptômes rappellent ceux de l'intoxication staphylococcique. Les nausées et les vomissements prédominent et apparaissent rapidement après la contamination (1/2 heure à 6 heures d'incubation). De la diarrhée et des douleurs abdominales peuvent parfois exister.

Hin Chung Wong et *al.*, 1988, ont isolé et caractérisé le *Bacillus cereus* à partir des produits laitiers provenant des marchés locaux de Taiwan en Chine: le germe était présent dans 17% des laits fermentés, 52% des crèmes glacées, 35% des glaces et 2% des laits pasteurisés.

L'incidence de *Bacillus cereus* a été déterminée dans les aliments indiens par Kamat et *al.*, en 1989. Ce germe fut isolé de différents produits alimentaires indiens avec un taux élevé de 87% à partir des crèmes glacées. Certaines souches isolées étaient productrices de toxines létales pour les souris.

Les *Bacillus cereus* isolés de nos échantillons pourraient provenir des poussières, des matières fécales ou de l'eau du fait de leurs spores thermorésistantes. Ce germe a été décelé aussi dans nos matières premières analysées (lait, ingrédients).

Les symptômes causés par ces germes sporulés et thermorésistants sont à rapprocher de ceux causés par le *Clostridium perfringens* isolés de nos échantillons. Par contre nous n'avons identifié aucun *Clostridium botulinum*.

1. 8. LEVURES ET MOISSURES

36% des échantillons analysés contiennent des levures et des moisissures. Les germes isolés ont été retrouvés dans le contrôle de l'air ambiant des usines et dans le lait reconstitué.

Les levures ne sont pas pathogènes (à l'exception de *C. albicans* et *Cryptococcus neoformans*, germes non identifiés dans nos recherches).

Certains auteurs ont recherché leur développement dans les glaces.

Graham et Mian, (1987), ont étudié la croissance des levures dans les produits laitiers et en particulier dans les glaces. Une faible quantité de levures y a été décelée et certaines espèces, à savoir *Candida famata*, *Kluyveromyces marxianus*, *Candida diffluens* et *Rhodotorula glutinis* ont été les plus fréquemment isolées. Leur prédominance et leur croissance seraient dues à la production de protéines et à leur capacité de croître à basse température..

D'après Bouix et Leveau, (1980), elles ne causent pas d'intoxication alimentaire. Mais leur participation n'est pas souhaitable dans les aliments. Elles peuvent produire par leur développement dans les produits finis des altérations d'odeur ou de goûts annexes anormaux, une augmentation de pH due à la dégradation des acides organiques car dans leur développement, les levures ont besoin de composés organiques qui leur procurent à la fois la source de carbone et d'énergie. Les levures vont trouver ces éléments dans les glaces et crèmes glacées.

Du point de vue technologique, il est nécessaire de les rechercher car elles peuvent causer les altérations importantes dans une fabrication rendant les produits incommensurables.

Les levures et moisissures doivent être recherchées qualitativement et quantitativement pour contrôler les produits finis, mais surtout l'efficacité du traitement des matières premières afin de modifier le barème de pasteurisation.

En effet, Moreau, (1980), a montré qu'il serait nécessaire de réaliser l'analyse mycologique de toutes les matières premières: le lait en poudre, le lait reconstitué, les additifs. Une espèce présente, même à l'état de trace, dans une des matières premières pouvant en effet trouver dans un produit fini les conditions idéales de son épanouissement. Cette recherche des sources de contamination serait complétée par le contrôle des locaux de fabrication ou d'entreposage.

Les levures et moisissures isolées de nos échantillons proviendraient de la matière première et de l'enceinte de l'usine.

1. 9. PROBLEMES RENCONTRES

Les résultats obtenus à partir des analyses des 300 échantillons de glaces et crèmes glacées nous ont mis en présence de certains problèmes:

1. 9. 1. Le problème de l'eau

Utilisée pour le rinçage du matériel et pour la fabrication des glaces reste préoccupant.

Les produits fabriqués à l'usine de Douala utilisant l'eau de distribution contenaient encore des *Pseudomonas*.. Cependant, cette usine utilise en plus le filtre Katadyn. L'eau est alors exempte de germe, mais les produits sont par la suite souillés.

Ces produits sont néanmoins de qualité plus satisfaisante que les produits de l'usine de Yaoundé utilisant l'eau de forage ou les produits de fabrication artisanale utilisant l'eau courante (eau de distribution, ou de puits, ou de réserve).

Suite à notre étude, l'usine de Yaoundé a pu se doter d'un filtre en fin de circuit de captage de l'eau. L'eau sortant du filtre est de bonne qualité bactériologique et est conforme aux normes de la législation régissant les eaux destinées aux industries agro-alimentaires. Cependant, les produits finis sont recontaminés par les mauvaises conditions d'hygiène et le matériel.

Le problème d'eau reste préoccupant dans nos métropoles. Une vaste opération dénommée "Objectif 2005" est en cours de réalisation et permettra peut-être dans quelques années le ravitaillement permanent des populations en eau potable. Ce qui pourrait diminuer les contaminations des glaces et crèmes glacées notamment celles de fabrication artisanale.

1. 9. 2. Le matériel

L'analyse du matériel utilisé pour la production des glaces a révélé la présence de nombreuses sources de contamination. Il faudrait veiller à ce que le matériel soit lavé, désinfecté par des antiseptiques et rincé à l'eau stérile.

Un contrôle préventif serait nécessaire pour s'assurer que l'installation et le matériel ne seraient pas susceptibles d'apporter une contamination sur des produits correctement pasteurisés: ceci reviendrait à vérifier l'efficacité des nettoyages. Ce contrôle préventif devrait inclure un contrôle statistique pour s'assurer qu'ils ne risqueraient pas d'amener en fin de ligne, une source de contamination secondaire., étant donné que les produits finis se répartissent en un grand nombre de conditionnements élémentaires (Deveaux, 1987).

1. 9. 3. La pasteurisation et l'hygiène

Les micro-organismes présents dans les glaces et crèmes glacées peuvent produire des saveurs indésirables et modifier les caractéristiques physiques. Ils peuvent être des germes pathogènes ou des germes sécrétant des toxines cause de certaines maladies telles les Salmonelloses, les gastro-entérites ou les toxi-infections alimentaires.

Ces micro-organismes en quantité importante dans les produits finis sont dus:

- soit au manque de pasteurisation (cas de glaces et crèmes glacées de fabrication artisanale);
- soit à une pasteurisation insuffisante (glaces de fabrication semi-industrielle).

Normalement le traitement du mélange (matières premières) entrant dans la composition des glaces et crèmes glacées devrait inhiber ou détruire ces micro-organismes.



Il est nécessaire de contrôler l'efficacité du traitement des matières premières ainsi que les produits finis, afin de modifier le barème de pasteurisation.

Enfin, les produits pasteurisés peuvent être recontaminés lors du processus de fabrication, soit par le matériel souillé, soit par l'environnement, soit par le personnel et ceci est dû aux mauvaises conditions d'hygiène.

Andriamangatiana - Rason et al. (1987), ont constaté que les glaces et crèmes glacées constituaient un excellent milieu de culture pour les germes. Les mauvaises conditions d'hygiène au cours du processus de fabrication seraient les facteurs contribuant à l'augmentation du nombre des coliformes. De plus, ces germes seraient capables de survivre dans le froid au cours du stockage et contribueraient aux altérations des produits finis.

1. 10. RECOMMANDATIONS

Pour la qualité hygiénique des matières premières et des produits finis, il est souhaitable que l'environnement et les conditions de travail du personnel soient améliorés par exemple par:

- le port de masque, de gants, de blouses propres;
- le nettoyage et la désinfection fréquents hebdomadaire des locaux et du matériel;
- l'aménagement d'eau de distribution potable, de douche et toilette à la disposition du personnel;
- l'établissement au sein de l'entreprise d'un contrôle préventif du personnel par le biais de la médecine du travail en prescrivant des examens de routine des selles, mains, nez, gorge, etc...;
- la sensibilisation éducative du personnel aux problèmes de l'hygiène.

2. CONCLUSION

La production des glaces et crèmes glacées au moyen de procédés semi-industriels ou artisanaux consiste à mélanger un certain nombre d'ingrédients (le lait, l'eau, la crème, le sucre, les œufs, le stabilisant et les parfums), à faire subir à ce mélange une pasteurisation suivie de la maturation et du foisonnement (avec introduction d'air), (Massa et al , 1969).

Durant ces dernières années, la consommation des glaces a augmenté, graduellement. En Europe de l'Ouest, la consommation est passée de 2 à 8 litres par habitant (Taminga et al., 1980). Au Cameroun, les glaces et crèmes glacées sont des denrées alimentaires rafraîchissantes de plus en plus appréciées surtout pendant la saison sèche lorsque la température s'élève au delà de 30°C et en période des classes notamment.

Les glaces produites sont destinées à la vente ambulante sur des chariots. Elles sont aussi servies en cornets par les distributeurs dans des alimentations, ou en bâtonnets disposés dans les glacières aux abords des écoles et dans les marchés. Ces produits sont surtout prisés par les jeunes, notamment la fabrication artisanale à cause de son faible coût (0,1 FF à 0,25 FF) contre 1 FF à 5 FF pour les glaces semi-industrielles.

Les glaces artisanales sont fabriquées avec l'eau d'usage courant (eau de distribution, de puits et même de réserve).

Vendues en sachets individuels, elles offrent moins de garantie du point de vue hygiénique puisqu'elles sont souillées en plus par les manipulations et que la chaîne de froid est rompue. Ceci est dû au manque de pasteurisation du mélange, aux mauvaises conditions d'hygiène durant la préparation et aux méthodes de vente utilisées (Mossel, 1988). Ces produits constituent un risque pour la santé du consommateur puisqu'ils contiennent un nombre important de germes reconnus pour être responsables de gastro-entérites et d'intoxications alimentaires.

Les glaces de fabrication semi-industrielle sont pour la plupart conservées chez les vendeurs et les détaillants à la température de 0. et +6°C.

A cette température de réfrigération, certains micro-organismes (*Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Aeromonas*, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Staphylococcus* et les streptocoques fécaux) se multiplient activement (Bourgeois et Leveau (1980)).

Entre l'usine et le lieu de vente, les glaces sont transportées à température ambiante dans des caissons

Du point de vue bactériologique, un respect convenable de la chaîne de froid écarte tout risque de développement microbien pendant la vie du produit. On a pu l'observer en analysant les glaces et crèmes glacées de fabrication industrielle importée.

Le matériel de fabrication doit être régulièrement lavé à l'eau courante, désinfecté et rincé pour enlever les traces d'antiseptiques. Il est extrêmement important de veiller à l'état sanitaire de la personne qui distribue les glaces: les rhumes, les blessures ou l'état infectieux des mains sont sources de contamination (Bourgeois, 1980).

Les résultats obtenus après la surveillance microbiologique des glaces et crèmes glacées ont permis à certains auteurs de formuler des recommandations:

- Une éducation et non des sanctions a été préconisée par Delia et Mauro, (1978), en Italie.

- D'après Massa et al., (1969), bien que les glaces et crèmes glacées soient en général considérées comme un produit à risque modéré selon la définition de la commission internationale de spécifications microbiologiques (ICMF), leur consommation a été à l'origine de toxi-infections alimentaires dues aux espèces *Salmonella spp* et *Staphylococcus aureus*. Des contrôles hygiéniques stricts devraient être imposés lors des processus de fabrication des glaces et crèmes glacées. Une éducation sanitaire des fabricants et même des vendeurs serait nécessaire afin de diminuer ces risques et améliorer la qualité microbiologique des produits.

- Rossi Carol, (1989), avait émis l'idée que des notes soient éditées dans les presses locales pour informer les fabricants et vendeurs des glaces et crèmes glacées. Cet auteur souhaiterait par ailleurs que les intéressés soient enregistrés par les autorités locales, étant donné que même au point de vente les glaces étaient exposées au risque de contamination par le matériel mal nettoyé ou les débris tombant sur les cornets non protégés. Une action légale devrait être entreprise contre les personnes inscrites, une licence à délai limité délivrée aux vendeurs et des contrôles microbiologiques seraient effectués régulièrement sur les glaces et crèmes glacées: les intéressés devraient se soumettre à la législation et les sanctions devraient être appliquées aux défaillants.

Les recommandations de Massa *et al.*, (1969), de Rossi Carol, (1989), sont tout à fait applicables à notre contexte, si certains fabricants s'efforcent de produire des glaces de bonne qualité, il semble toutefois que d'autres fassent preuve de beaucoup de négligence et d'inconscience.

S'agissant de la législation, certains pays se sont référés pour le contrôle de la qualité aux critères de la Commission Internationale des Spécifications Microbiologiques des aliments "ICMSF", (Salji *et al.*, 1987), et ont constaté que ces normes importées n'étaient pas toujours adaptées au contexte local.

Certains ont adopté les normes françaises (Andriamanangiana-Rason *et al.*, 1987) et ont montré que 79% d'échantillons étaient impropres à la consommation.

Pour nos produits avec les mêmes critères, 100% sont non conformes du fait du nombre élevé de coliformes.

Comme le soulignent Veit et Michard, (1988), le problème de l'établissement des critères microbiologiques est important tant pour les pouvoirs publics ayant en charge la protection de la santé des consommateurs que pour les entreprises qui doivent mettre sur le marché des produits sains, loyaux et marchands. Le but des critères microbiologiques est non seulement de protéger la santé des consommateurs en leur fournissant des produits sûrs et de bonne qualité hygiénique, mais également de faire en sorte que les exigences de la pratique loyale dans le commerce soient satisfaites. Le respect des bonnes pratiques de fabrication est tout aussi important, sinon plus, pour s'assurer de la maîtrise du risque dû aux micro-organismes indésirables.

Une grande sévérité s'impose dans l'établissement des critères puisqu'il s'agit d'aliments qui vont être destinés à certaines "catégories de personnes" (sujets jeunes). Trois principes fondamentaux devraient être respectés d'après Veit et Michard, (1988):

- L'appréciation de la portée du critère microbiologique en ce qui concerne la protection de la santé publique.
- Il faut que les normes puissent être observées par des professionnels travaillant dans de bonnes conditions hygiéniques avec des matières premières de qualité. Il est donc nécessaire de connaître les niveaux de contamination microbienne notamment pour les levures et moisissures des aliments qui sont élaborés, stockés et distribués selon les bonnes pratiques.

- La facilité de la vérification des critères constitue la troisième exigence. Il faut pouvoir allier cette exigence de facilité qui exige de raisonner avec de petites quantités, avec celle de "l'efficacité du critère". Ceci implique notamment que l'interprétation du critère puisse être modulée.

Les normes microbiologiques représentent les critères dont le respect est imposé par la loi ou le règlement. Ce sont celles qui seront vérifiées lors des contrôles officiels.

Les normes concernent surtout les micro-organismes pathogènes: *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*. *E. coli*, témoin de contamination, sera également souvent retenu du fait qu'il est un agent possible de gastro entérites. Mais ces normes prendront en compte des micro-organismes non pathogènes comme indicateurs de l'altération de la qualité des aliments (coliformes en quantité importante, Streptocoques fécaux), levures et moisissures.

Certains micro-organismes qui ne sont pas habituellement considérés comme pathogènes tels que *Proteus*, *Bacillus*, Streptocoques fécaux, *Pseudomonas* peuvent cependant engendrer des intoxications quand ils sont trop nombreux.

Les principes énoncés par Veit et Michard, (1988) peuvent être appliqués lors de l'établissement des critères microbiologiques par la législation camerounaise. Le Service d'Hygiène et de Médecine Préventive devrait veiller à cette réglementation et à l'amélioration de l'environnement.

Avant de faire appliquer les normes par la législation camerounaise, des notions élémentaires d'hygiène devraient être données par le Service de Médecine Préventive aux fabricants et aux vendeurs des glaces et crèmes glacées.

Ces recommandations comporteraient deux volets.

***Pour les fabricants:**

- le respect de bonnes pratiques de fabrication, par l'achat de matières premières de qualité, y compris une eau potable, par le nettoyage, désinfection, rinçage du matériel et les salles de production y associant les contrôles préventifs;
- l'hygiène corporelle, le port des masques et des gants à usage unique dans la salle de production;
- la fabrication des produits de bonne qualité microbiologique avec une pasteurisation suffisante souhaitable;
- le respect de la chaîne de froid.

***Pour les vendeurs:**

- il faudrait adopter les points fixes de vente fréquents et proscrire les ventes ambulantes;

- des notes explicatives devraient être fournies avec les livraisons de glaces et comporteraient:

° la température de conservation au froid;

° les conditions d'hygiène à appliquer pour ces produits (manipulation aseptique, ports de gants, cornets protégés, ...) et nettoyage, désinfection, rinçage des matériels destinés à la vente (sorbetières, glacières, cuillers);

° contrôle de l'état sanitaire de la personne qui distribue les glaces par le biais de la Médecine du Travail et traitement des porteurs sains.

Ceci permettrait l'amélioration de la qualité hygiénique des produits, et entraînerait une diminution voire une suppression des germes indicateurs de contamination fécale, des germes pathogènes (*Salmonella*, *Shigella*) ou des germes sécrétant une toxine.

Ces recommandations devraient être appliquées en permanence et un contrôle régulier de glaces et crèmes glacés effectué chez les fabricants et les revendeurs. Les résultats obtenus lors des analyses seraient commentés et des conseils prodigués aux intéressés. Les contrevenants pourraient être avertis des risques encourus.

Ces mesures permettraient d'éviter la contamination microbienne par des germes pathogènes et l'apport de nouveaux microbes dans les produits finis.

Les résultats de cette étude ont contribué à souligner la nécessité du contrôle de la qualité microbiologique des glaces et crèmes glacées dans le but de préserver la santé des consommateurs.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - Al Rajab Wafa J. , Al Dabbagh Wail Y. , Al-Zahawi Soad M. (1986)**
Occurence of Salmonella in Iracqi Milks Products.
Journal of food Protection , **49** , 282-284.
- 2 - Andriamanganatiana-Rason M.D. , Rasolofonirina N.,
Coulanges P . (1987)**
Qualité bactériologique des glaces et crèmes glacées dans la région d'Antananarivo.
Arch. Inst. Pasteur Madagascar , **53** , 235-244.
- 3 - Bastepe S. , Kösker O. (1981)**
Isolation of coagulase-positive staphylococci from cheese and ice-cream samples sold in
Ankara and some biochemical properties of the isolates.
Microbiyol, Bult. , **15** , 55-63.
- 4 - Batish V. K. ,Chander H. (1987)**
Occurence of Staphylococcus aureus and their preformed enterotoxins in frozen dairy
products. Australian journal of dairy Technology , **42** , 22-24 .
- 5 - Blech M. F., Vannelle A , Hartemann P., Foliguet J. M . (1983)**
Intérêt et limites de la recherche des staphylocoques présumés pathogènes parmi le
personnel des cuisines collectives. Bilan de 5 années de contrôle microbiologique,
Med. Mal. Infec ., **13** , 62-68.
- 6 - Billon J. (1980)**
Le genre Clostridium in " Bourgeois C.M.et Leveau J.Y. Le contrôle microbiologique".
Lavoisier. Paris, **3** , 201-208.
- 7 - Bouix M. , Leveau J.Y.(1980)**
Les levures in " Bourgeois C.M.et Leveau J.Y. Le contrôle microbiologique".
Lavoisier. Paris, **3** , 130-144 .
- 8 - Bouix M. , Leveau J.Y. (1984)**
Contrôle microbiologique in "Scriban, Biotechnologie". Paris , 469-478.
- 9 - Bourgeois C.M. (1980)**
La microflore aérobie mésophile totale in " Bourgeois C.M. et Leveau J.Y. Le contrôle
microbiologique ". Lavoisier. Paris, **3** , 12-57 , 93-98.
- 10 - Bourgeois C.M. , Cleret J.J. (1980)**
Principes de base du contrôle microbiologique industriel et de son exploitation in
"Bourgeois C.M. et Leveau J.Y. Le contrôle microbiologique".
Lavoisier , Paris, **3** , 3-11.
- 11 - Bourgeois C.M. , Malcoste R. (1980)**
Techniques classiques de détection et de dénombrement ; leurs variantes modernes in
"Bourgeois C.M. et Leveau J.Y. Le contrôle microbiologique".
Lavoisier , Paris, **3** , 23-41.

- 12 - Bourgeois C.M. , Mafart P. (1980)**
Techniques nouvelles de détection et de dénombrement in "Bourgeois C.M. et Leveau J.Y. Le contrôle microbiologique". Lavoisier , Paris, 3 , 42-62.
- 13 - Bourgeois C.M. , Plusquellec A. (1980)**
Prélèvement, transport et préparation des échantillons in "Bourgeois C.M. et Leveau J.Y. Le contrôle microbiologique". Lavoisier , Paris, 3 , 12-21.
- 14 - Brosky J.A. , Grootwassink J.W.D. (1986)**
Development and evaluation of whole cell yeast lactase for use in dairy processing. Journal of Science , 51 , 897-903.
- 15 - Buisson Y. (1992)**
La toxi-infection alimentaire in " Les Salmonelles et leur pathologie" . Méd. Mal. Inf , 22 , Spécial , 272-281
- 16 - Catsaras M. , Bourgeois C.M .(1980)**
Les indices de contamination fécale in "Bourgeois C.M. et Leveau J.Y. Le contrôle microbiologique". Lavoisier. Paris , 3 , 174 -184.
- 17 - Chen K .(1989)**
Large food poisoning of Salmonella typhimurium caused by ice drinks. Chinese Journal of Epidemiology , 10 , 34-36.
- 18 - Cowden J.M. , Chisholm D. , O' Mahony M. , Lynch D. (1989)**
Two outbreaks of Salmonella enteritidis phage type 4 infection associated with the consumption of fresh shell-egg products. Epidem. Inf ., 103 , 47-52 .
- 19 - De Centorbi O.P., De Gulman A.C. , De Cuadrado A. M. (1989)**
Determinacion de la calidad higiénica e investigacion de Salmonella sp. y Yersinia enterocolitica en helados. Revista Argentina de Microbiologia , 21 , 63-69.
- 20 - Delia S. , Mauro A. (1980)**
Controllo microbiologico del gelato artigianale a Messina . Ann. Sclavo., 22 , 624-632.
- 21 - Deveaux R. (1987)**
Le contrôle bactériologique préventif d'une usine alimentaire, exemple: production de crème glacée. Sci. Aliments , hors série VII , 189-200 .
- 22 - Dromingny E.P. , Jouve J.L. (1988)**
Bacillus cereus in "Bourgeois C.M., Mescle J.F., Zucca J Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaires" .Lavoisier. Paris, 1 , 102-106.
- 23 - Gledel (1980)**
Le genre Salmonella in "Bourgeois C.M. et Leveau J.Y.Le contrôle microbiologique" . Lavoisier. Paris , 3 , 188-197.
- 24 - Gemmel C.G. , Dawson J.E. (1982)**
Identification of coagulase negative Staphylococci with the Api system. J.Clin . Microbio, 16 , 874-877.
- 25 - Guiraud J., Galzy P. (1980)**
L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Collection génie alimentaire, 236 p.
- 26 - Graham H.F. , Mian M.A (1987)**
The occurrence and growth of yeasts in dairy products. International Journal of food Microbiology , 4 , 145-155.

- 27 - **Hin-Chung Wong , Man - Huei Chang , Jin - Yuan Fan.(1988)**
Incidence and characterization of *Bacillus cereus* . Isolates contaminating dairy products
Applied and Environmental Microbiology , 699-702.
- 28 - **Kamat A.S. , Nerkar P. , Nair P.M . (1989)**
Bacillus cereus in some indian foods, incidence and antibiotic, heat and radiations
resistance. Journal of Food Safety , 10 , 31-41.
- 29 - **Kramer A , Twigg B.A. (1970)**
Quality control for the food industry 3 éd. ,Fundamentals. The Avi publishing Company ,
in Westport conn. , 3 , 556-558.
- 30 - **Lahellec C. , Colin P.(1980) .**
La flore psychrotrophe in "Bourgeois C.M. et Leveau J.Y.Le contrôle
microbiologique".Lavoisier, Paris, 3 , 98-105.
- 31 - **Lahellec C. , Corbion B. , Frémy S .(1992)**
Les Salmonelles chez les animaux. Méd. Mal. Inf. .Spécial , 22 , 258-263 .
- 32 - **Larpent J.P.(1988)**
Laits et produits laitiers non fermentés in "Bourgeois C.M. et Leveau J.Y. Aspect
microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaires" . Lavoisier. Paris , 1 , 201-209.
- 33 - **Leclerc H . (1988)**
Eaux et consommation in."Bourgeois C.M. et Leveau J.L. Aspect microbiologique de la
sécurité et de la qualité alimentaires"., 1 , 189-200.
- 34 - **Leclerc H. , Mossel D.A.A. (1989)**
Microbiologie: le tube digestif, l'eau et les aliments .
Doin . Paris.
- 35 - **Le Minor L. , Le Minor S. (1981)**
Origine et répartition en sérotypes des souches isolées en France et reçues au Centre
National de Salmonella de 1977 à 1979.Rev. Epidem. Santé publique , 29 , 45-55.
- 36 - **Le Minor L. , Véron M.(1982)**
Bactériologie médicale. Flammarion. Paris, 773 p.
- 37 - **Lim Y. , Kang S.H., Jegathesan M., Soosaipillai J.N. , Koay A.S.,
Pereira C.,Woo F.C. (1985)**
The bactériological quality of ice cream at the retail level in Kuala.
Tropical Biomedecine. Malaisia , 2 , 81-86.
- 38 - **Mahasneh Adel , Hashwa F.A. (1981)**
Microbial contamination of ice cream in the city of Amman .
Jordan Medical Journal , 15 , 65-71.
- 39 - **Marante A. , Garrido yebra M.D., Alvarez R. (1989)**
Calidad microbiologica de helados artesanales.
Annales de Bromatologia , Xlt-1 , 57-63.
- 40 - **Massa S., Poda G Cesaroni , Trovatelli L.D . (1989)**
A bacteriological survey of retail ice cream. Food Microbiology , 6 , 129-134.
- 41 - **Mescle J.F. , Zucca J .(1988)**
Le comportement des microorganismes en milieu alimentaire in ".Bourgeois C.M., Mescle
J.F. et Zucca J. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaire".
Lavoisier. Paris, 1 , 7-15.

- 42 - Moreau C. (1980)**
Les moisissures.,in ".Bourgeois C.M. et Leveau L.Y. Le contrôle microbiologique".
Lavoisier. Paris, **3** , 146-157.
- 43 - Moreno E. ,Gonzalez B. ,Fernandez-Cuesta (1987).**
Study of psychrotrophic bacteria in ice cram.
Alimentaria . Spain , **24** , 87-90.
- 44 - Mossel D.A.A. (1988)**
Identification de Staphylocoques isolés d'aliments préparés.
(Coord),Roosen F. Françoise Blazy-Maugen ,Michel G.
Microbiologie - Aliments- Nutrition, **6** , 411-414.
- 45 - Multon J.L. (1985)**
La qualité des produits alimentaires -politique- incitations- gestion-et contrôle.
Lavoisier. Paris, 487 p.
- 46 - Plusquellec A.(1980)**
Différents controles in "Bourgeois C.M.et Leveau J.Y.Le contrôle microbiologique"
Lavoisier. Paris, **3** , 221-243 , 263-265.
- 47 - Plusquellec A. et J.L. Leveau (1980)**
Le contrôle du matériel, de l'atmosphère, du personnel, in "Bourgeois C.M.et Leveau
J.Y.Le contrôle microbiologique" Lavoisier. Paris, **3** , 322-331.
- 48 - Poumeyrol (1990)**
Bactériologie des toxi-infections alimentaires.
Troisième partie: bactéries d'incidence mal connue, Vibrio parahaemolyticus, Bacillus
cereus, Escherichia coli.
Feuillets de biologie, **XXXI** , **173** , 9-19.
- 49 - Roosen F. Françoise Blazy-Maugen, G. Michel (1988)**
Identification des staphylocoques isolés d'aliments préparés.
Microbiologie-Aliments- Nutrition, **6** , p.411-415.
- 50 -Rossi C. (1990)**
Bacteriological quality of soft ice cream in Food Hygiène Environnemental
Health ,1611--1163.
- 51 - Saddik N.F. ,El-Sherbeeney and Nagwa E. Sultan (1985)**
Mesophilic aerobic organisms and certain pathogens associated with milk and some dairy
products. Annals Agri. Sci., Fac. Agri. , Ain Shame Univ. Caire.
Egypt, **30** , 349-360.
- 52 - Salji J.P. ,Sawaya W.N., Ayaz M. and Mashhadi (1987)**
Production, processing and quality addesment of dairy products in the western Province of
Saudi Arabia.
Dairy Products of Saudi Arabia, **42** , 27-31.
- 53 - Stengel (1987)**
Results of bacteriological investigations of ice cream.
Milchwissenschaft ., **42** , 631-634.
- 54 - Tamminga S. K.. Beumer R.R., Kampelmacher E.H. (1980)**
Bacteriological examinationof ice cream in the Netherlands comparative studies on
methods.
Journal of Applied Bacteriology , **49** , 239-254.

- 55 - Taylor D.N. , Bopp C. , Birkness K., Cohen M. (1984)**
An outbreak of 2 Salmonellosis associated with a fatality in a healthy child a large dose and severe illness. American Journal of Epidemiology , **119** , 907-912.
- 56 - Veit P. ,Michard J. (1988)**
Méthodologie de l'établissement des normes microbiologiques Recommandations en matière de contamination fongique .
Microbiologie- Aliments- Nutrition, **6** , 393-401..
- 57 - Veisseyre R.(1975)**
Technologie du lait: constitution, récolte , traitement et transformation du lait .
La Maison rustique .Paris , 421-425 .

Critères microbiologiques se rapportant au sucre, aux produits végétaux surgelés ou déshydratés (GUIRAUD, J. et GALZY, P. - 1980).

a)- Sucre (composition microbiologique pour 10 grammes):

- flore totale mésophile <200
- flore sporulée mésophile totale <125 flore sporulée thermophile totale <150
- flore sporulée thermophile acidifiante <50
- flore sporulée thermophile anaérobie
- flore sporulée thermophile sulfitoréductrice <5
- levures <10
- moisissures <10
- flore osmophile <10.

b)- Produits végétaux surgelés ou déshydratés (composition microbiologique par gramme):

- flore fongique <500
- levures <500
- flore totale < 5×10^5
- coliformes < 10^3
- *Escherichia coli* <10

Critères microbiologiques relatifs aux eaux destinées à la consommation humaine ou à l'industrie

(Ministère Français de la Solidarité, de la Santé et de la Protection Sociale, Avril 1990)

- L'eau destinée à la consommation humaine ne doit pas contenir de micro-organismes pathogènes, en particulier de salmonelles dans 5 litres d'eau prélevée; de staphylocoques pathogènes dans 100 ml d'eau prélevée; de bactériophages fécaux dans 50 ml d'eau prélevée; d'entérovirus dans un volume ramené à 10 litres d'eau prélevée.

- 95% au moins des échantillons prélevés ne doivent pas contenir de coliformes dans 100 ml d'eau.

- L'eau ne doit pas contenir des coliformes thermotolérants et de streptocoques fécaux dans 100 ml d'eau prélevée

- L'eau ne doit pas contenir plus d'une spore de bactéries anaérobies sulfitoréductrices par 10 ml d'eau prélevée.

Lorsque les eaux sont livrées sous forme conditionnée, le dénombrement des bactéries aérobies revivifiables à 37°C et après 24 heures doit être ≤ 20 par ml d'eau; à 22°C et après 72 heures il doit être ≤ 100 ml d'eau prélevée. L'analyse est commencée dans les 12 heures suivant le conditionnement.

Extrait du Décret n°90-330 du 10 avril 1990.

