



*Université sidi Mohammed Ben Abdallah
Faculté des Sciences et Techniques -Fès
Département des sciences de la vie
LST Biotechnologie, Hygiène et Sécurité des Aliments*

Rapport de stage sous le thème

LES MEUSURES PREVENTIVES CONTRE LES ATTAQUES PHAGIQUES



Centrale laitière-Meknès

Réalisé par : *Lahnafi DALAL*

Encadré par :

- ✓ FST : *Pr Bekhti KHADIJA*
- ✓ Centrale : *Mr Hossni OMAR*

Membre jury :

Présidente jury : *Pr Bekhti KHADIJA*

Examinatrice : *Pr El Ghachtouli*

NAIMA

Table des matières

Introduction	1
Présentation de la société	3
Bibliographie	4
1 .Lait.....	4
1.1Composition du lait	4
1.2Fermentation du lait.....	4
1.3Étapes du lait aux fromages	5
2 .Contrainte de la fermentation	9
2.1Contamination par les bactériophages	9
2.1.1Définition des phages.....	9
2.1.2La morphologie du phage.....	10
2.1.3Classification des phages	10
2.1.4Cycle de multiplication des phages et interaction entre phage et bactéries.....	11
2.1.5Méthodes de détections des phages.....	13
3. Mesures préventives contre les attaques phagiques	14
3.1 Nettoyage et désinfection	14
3.2Module d'injection de ferment	15
3.3 Paramètres physicochimiques de fermentation	15
Matériels et méthodes	17
1La prévention contres les phages	17
1 .1Hygiène des locaux et du matériel de préparation du lait.....	17
1.2Suivi des paramètres physicochimiques au cours de la fermentation	18
Résultats et discussion	19
Conclusion	29
Annexe	30
Références bibliographiques.....	34

Introduction

Le lait est un liquide nutritif blanc mat, légèrement visqueux, dont la composition et les caractéristiques physico-chimiques varient sensiblement selon les espèces animales et même selon les races. Ces caractéristiques varient également au cours de la période de lactation et au cours de la traite. Le lait donne naissance par transformation à une très vaste famille de produits laitiers. Les transformations du lait en produits laitiers sont toutes basées sur des processus d'évolution physiques ou physico-chimiques.

La fabrication des fromages frais est la moins compliquée, même si, selon les variétés, elle se complique pour obtenir des textures et des saveurs élaborées, elle comprend deux étapes :

Le caillage, première étape de la fabrication du fromage, appelée aussi la « coagulation ». Il consiste à faire coaguler la caséine du lait sous l'effet de l'acide lactique avec ajout de présure dont l'effet coagulant est limité.

L'égouttage : c'est la séparation du caillé du lactosérum ou petit lait. Il peut se faire spontanément ou être accéléré en centrifugeuse. Les fromages frais sont généralement peu égouttés

Le lait au cours de sa transformation risque plusieurs dangers dont les attaques phagiques des ferments.

Ces bactériophages sont un groupe de virus qui ciblent des bactéries lactiques spécifiques du ferment, tels que les Lactocoques. L'infection par les bactériophages est la cause majeure de défaut de fermentation ou d'une production lente d'acides lors de la fermentation.

Les bactériophages sont omniprésents dans une industrie laitière ; on les retrouve en diverses concentrations : faibles dans les salles à environnement contrôlé ou élevées dans les salles à air non contrôlé.

Les principales mesures préventives contre les phages sont :

- ✓ Le contrôle de la présence de bactériophages au cours du processus ou dans le produit fini.
- ✓ Le contrôle de la qualité de la matière première (antibiotique et inhibiteur)
- ✓ Le choix des ferments : culture pure ou non, population des levains, taux d'ensemencement)
- ✓ Le contrôle de la sanitation (efficacité du nettoyage et de la désinfection)
- ✓ Le contrôle des paramètres de fabrication (sensibilité à la température aux sucres, aux contraintes de fabrication rotation systématiques ou non).

Dans ce rapport nous allons nous intéresser à deux parties : une partie purement bibliographique concernant les phages leur classification leur identification et les moyens de lutte et une deuxième partie pratique concernant les mesures préventives contre les attaques phagiques ou on va traiter la mise en place de plan de nettoyage, le contrôle de nettoyage et le suivi des paramètres physicochimiques de la fermentation.

Présentation de la société

Centrale laitière Meknès :

Créée en 1985, l'usine de Meknès évolue d'une façon régulière. Cette évolution se résume en une augmentation croissante des volumes du lait traités (elle traite 420 000 litres /jour par rapport à 1985, 80 000 litres/ jour) et en une diversification des produits réalisés(en 1985, l'usine de Meknès ne réalisait que du lait pasteurisé, en 1992 la création de l'atelier fromager et par conséquent la fabrication des petits suisses Gervais (DANINO naturel ou aromatisé aux fruits) ainsi que celles des fromages blancs Jockey(naturel sucré ou à la fraise) ; en 1998 la production de DANY et vers la fin de 2002, l'apparition de DANETTE avec les trois arômes (vanille, caramel et chocolat) ;en 2011 le transfert de l'atelier de Raïbi de salé à Meknès

Situation géographique :

La Centrale laitière de Meknès s'est implantée dans l'agglomération rurale de Sidi Slimane à une dizaine de kilomètres de Meknès, située à 140 Km de Rabat et à 60 de Fès, la localisation de l'usine et sa position stratégique permet une forte production du lait puisque la région de Meknès est entourée par les plaines fertiles qui précèdent le moyen Atlas, bénéficie d'un dynamisme économique et des ressources agricoles considérables. Aussi elle constitue une porte vers le sud et l'est du pays (Midelt ou Arfoud).

Bibliographie

1. Le lait

1. 1.LA COMPOSITION DU LAIT

Le lait est constitué principalement d'eau, de lactose, de matières grasses, de protéines et de sels minéraux, les proportions de ses composants sont représentées dans le tableau1. Le lait est une source de vitamines naturelles irremplaçables. Il contient plusieurs enzymes indispensables aux réactions biochimiques de la vie. Le résidu obtenu après avoir éliminer toute l'eau du lait est appelé extrait sec.

Les proportions des différents composants du lait varient selon les espèces.

Tableau1: Les composants du lait en gramme par litre

Composant	Quantité en gramme dans un litre de lait
Eau	905
Sucre	49
Matières grasses	35
Protéines	34
<i>caséine</i>	
<i>protéines solubles</i>	27
<i>autres</i>	5,5
	1,5
Sels	9

1. 2. LA FERMENTATION DU LAIT

Les ferments lactiques jouent un rôle vital dans la fabrication du fromage ; ils produisent l'acide lactique, responsable de la coagulation du lait par le processus de fermentation. La réaction de la fermentation est catalysée par la présure et le calcium qui interagissent avec la paracaseine et favorise la séparation de coagulum et le lactosérum

1. 3. LES ETAPES DU LAIT AU FROMAGES

Du lait au fromage, le lait passe par plusieurs étapes (fig3)

Réception : la citerne une fois à l'usine passe par le pont à bascule pour la pesée et le lait cru passe par le dégazeur à vide « séparateur d'air » afin d'éviter le risque d'encrasser le refroidisseur. Une pompe centrifuge soutire le lait du dégazeur à travers des filtres qui piègent les objets étrangers.

Le lait filtré est refroidi dans un refroidisseur à une température de 4°C puis pompé vers les tanks de réception

Ecrémage : c'est l'élimination de l'excès de la crème par centrifugation

Pasteurisation : le lait écrémé est pasteurisé à une température de 90°C.

Ensemencement : l'ajout du ferment et de la présure pour la coagulation du lait

Le caillage : Le caillage consiste à solidifier le lait par acidification due à l'action des ferments lactiques et de la présure. Le lait passe alors de l'état liquide à l'état solide à une température fixée selon la nature du ferment (mésophile ou thermophile)

L'égouttage Il permet de séparer le caillé du lactosérum ou petit lait. Il peut se faire spontanément ou être accéléré en centrifugeuse. Les fromages frais sont généralement peu égouttés.

La thermisation

Elle contribue aussi à un bon rendement en protéines en minimisant les pertes dans le sérum.

Dans l'échangeur thermique, le coagulum subit une élévation de température de 60°C.

A la sortie du thermisateur, le coagulum passe dans une centrifugation afin d'être séparé en pâte maigre et sérum.

Préparation de la crème sucrée

Après recueillement d'un certain volume de la crème fraîche pasteurisée dans une cuve, on y ajoute le lait écrémé (32 g/l de protéine), le sucre, le fer, les vitamines et l'ensemble est soumis à une agitation est ensuite stérilisé

La stérilisation de la crème sucrée

La crème sucrée est pompée vers la section de préchauffage de l'échangeur de chaleur à plaques. Après un préchauffage à environ 80°C le produit poursuit son chemin jusqu'à l'homogénéisateur

Après l'homogénéisateur aseptique à deux étages, le produit est amené à la section de la stérilisation où la température arrive à 135°C environ. Le produit est maintenu à la température de la stérilisation dans le chambreur pendant quelques secondes et le produit est refroidi à environ 6°C dans l'échangeur puis gagne directement une cuve aseptique (TCS : tank crème stérilisée), afin d'être mélangé avec la pâte maigre. Ces étapes de fabrications sont expliquées par la fig.2.

Le mélange de la pâte maigre avec la crème sucrée est assuré par un mélangeur et la pâte issue de ce mélange est appelée pâte grasse. Elle est refroidie à 15°C puis stockée dans un silo pour être conditionnée

L'arôme ou les fruits sont injectés en ligne dans la pâte grasse qui passe par un mélangeur statique ou dynamique, afin de bien les mélanger avant le conditionnement

Le conditionnement

C'est l'étape ultime de la fabrication, elle s'effectue à l'aide de machines (fig1) assurant à la fois :

- Le thermoformage des pots à partir des films plastiques
- Le dosage du produit fini dans des pots sous protection bactériologique que confère la hotte
- La fermeture hermétique des pots par thermo scellage.
- L'impression et le marquage de la date limite de consommation ainsi que le cisailage pour l'obtention des barquettes

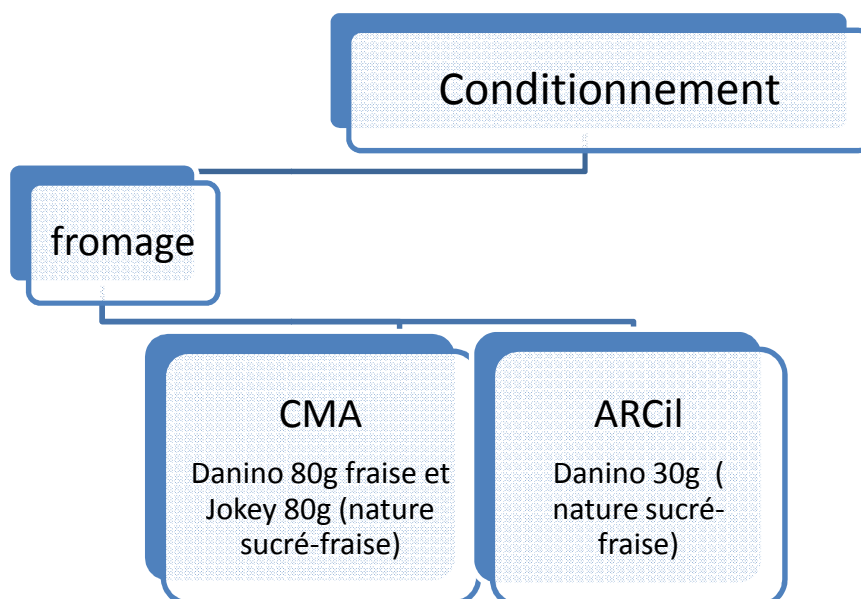


Fig1 : Conditionnement fromage

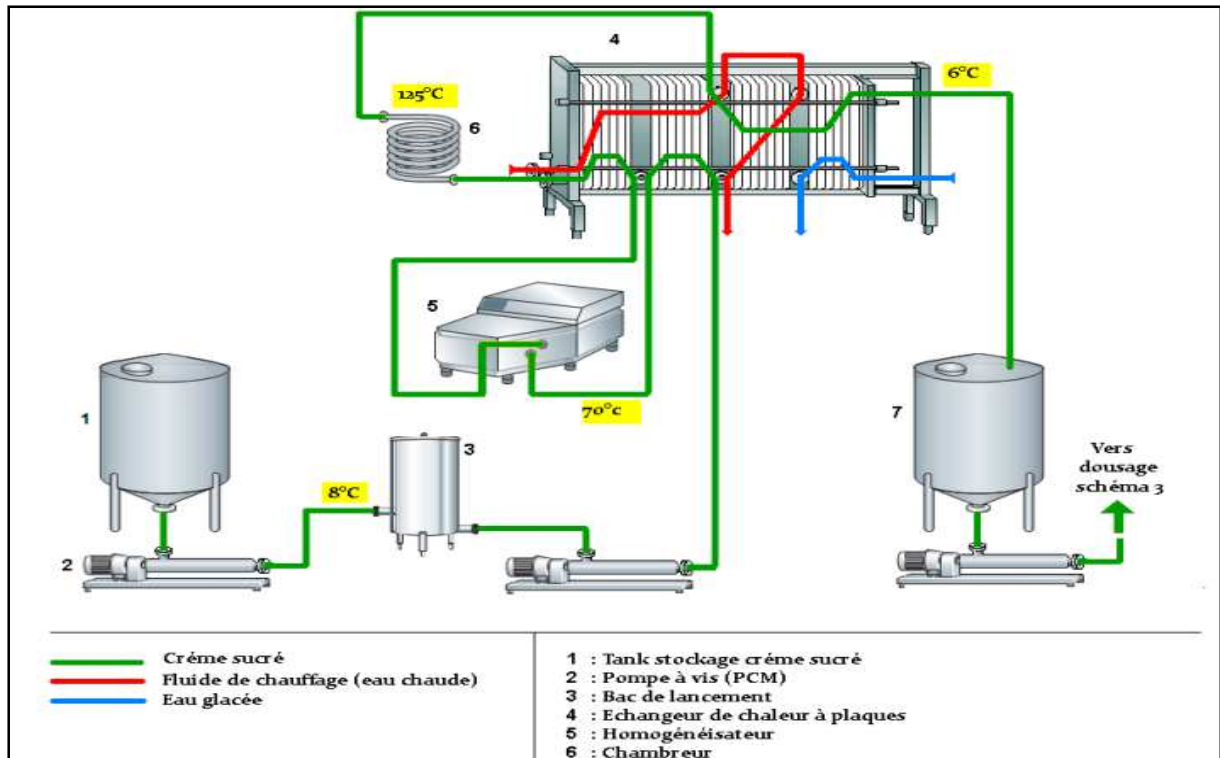


Fig2 : La stérilisation de la crème sucrée

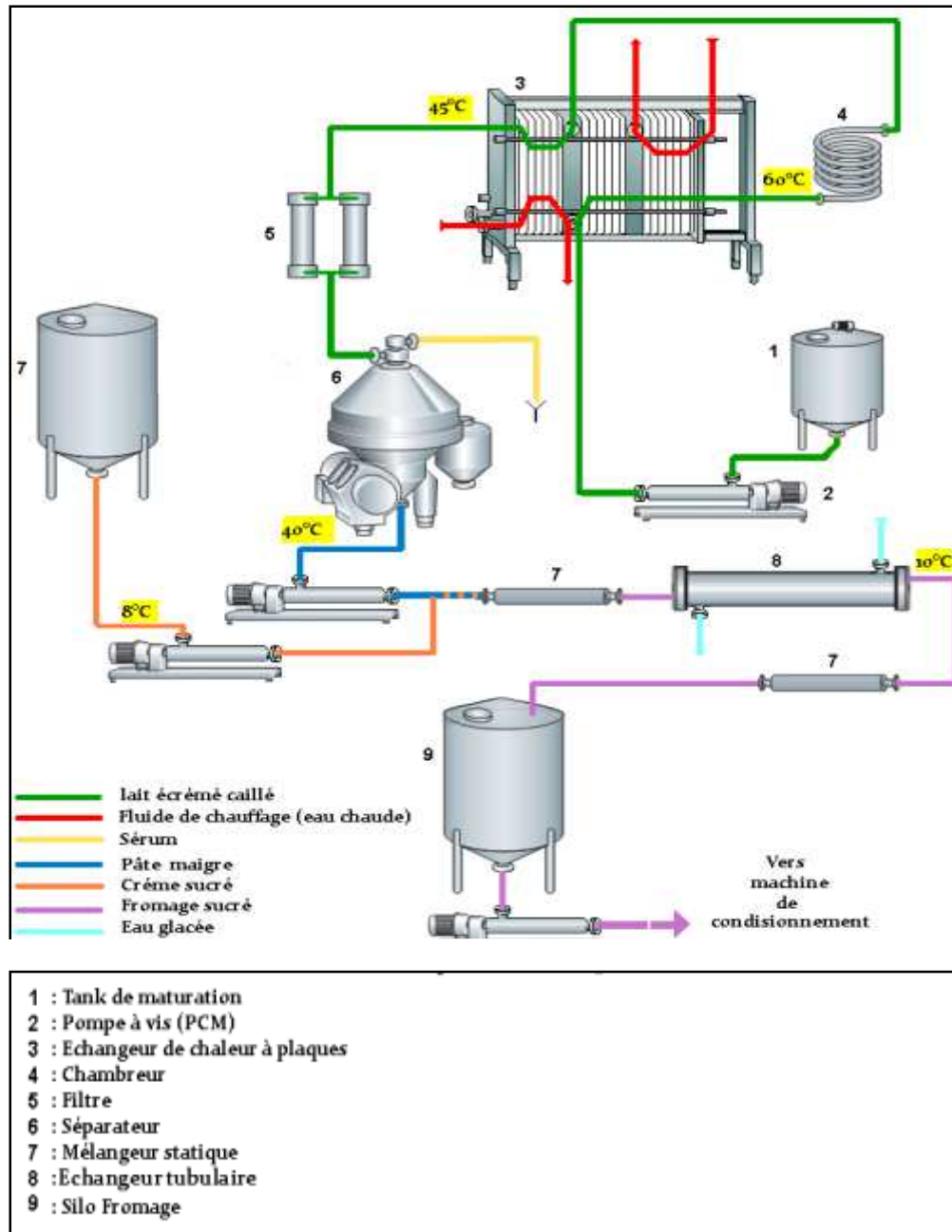


Fig3 : Ligne de la fabrication du fromage frais

2. LES CONTRAINTES DE LA FERMENTATION

La fermentation peut être perturbée par plusieurs causes mais la cause principale du défaut de fermentation c'est la contamination par les bactériophages. Ce déséquilibre peut être dû à:

- l'environnement est chargé en virus susceptibles de phager la ou les souches présentes

- un sous produit contenant un grand nombre de phages (mauvais nettoyage et désinfection)
- la mauvaise qualité des matières premières

2.1. CONTAMINATION PAR LES BACTERIOPHAGES

2.1.1. Définition du bactériophage

Les bactériophages sont des virus spécifiques des bactéries lactiques pouvant provoquer des infections brutales et détruire en quelques heures la quasi totalité d'une culture bactérienne.

Frederik .W. Twort en 1915 fut le premier chercheur à mentionner l'existence de virus capable de neutraliser des cellules.

En 1917 Félix Hubert d'Hérelle, chercheur canadien à l'institut pasteur de paris, définit les bactériophages comme microbes invisibles capables d'infecter des bactéries.

LWOOF en 1953 a proposé une définition encore aujourd'hui valable :

- le virion ne possède qu'un type d'acide nucléique
- le virion ne se reproduit qu'à partir de son propre acide nucléique
- le virion est incapable de croître seul
- De nos jours on dénombre plus de 4000 phages isolés et décrits dans plus de 100 genres bactériens.
- On retrouve les phages dans le sol, l'eau, les végétaux et les animaux (tubes digestifs)
- le virion ne dispose d'aucune information génétique permettant la synthèse d'enzymes capables de produire de l'énergie
- la multiplication des virions fait obligatoirement appel à la machinerie de la cellule hôte, impliquant un parasitisme absolu
- Leur dissémination dans l'environnement s'effectue par les cellules hôtes.
- Le phage ou bactériophage est une particule virale ou virion capable d'infecter une bactérie.

2.1.2 MORPHOLOGIES DU PHAGE

Le phage comporte une tête enveloppant et protégeant l'acide nucléique et une queue constituant l'organe d'injection de l'acide nucléique dans la cellule infestée.

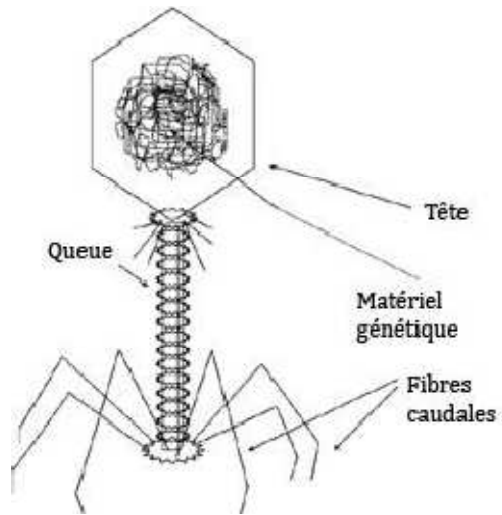


Fig4 : Morphologie du phage

La tête :

- Enveloppe protéique ou capsid, résistante aux enzymes protéolytiques, qui héberge l'acide nucléique pour le protéger en particulier contre les nucléases provenant de la lyse bactérienne.
- Dimension : 40 à 60nm
- De forme polyèdre régulier dont l'axe de symétrie passe par le point d'attachement de la queue.

La queue :

- C'est un tube régulièrement strié, composé d'un empilement d'anneaux ayant une disposition hélicoïdale autour d'un axe creux.
- Dimension : 24 à 700 nm de long, 4 à 12 nm de diamètre

Génome du bactériophage

Le génome de tous les phages est formé d'ADN bicaténaire (1).

2.1.3 Classification des phages

Les phages sont classés selon plusieurs critères. Les principaux critères sont la morphologie et l'homologie de l'ADN, d'autres critères tels que le profil protéique, le profil de restriction ou encore le spectre lytique, sont exploités d'avantage à des fins de caractère de classification.

Le microscope électronique nous permet de déterminer la morphologie des phages. Douze espèces de phages de lactococques, ont été classées par la comité international de taxonomie des virus (2) (3) .

2.1.4. Cycle de multiplication des phages et interaction entre phage et bactéries

Les phages sont immobiles, donc leur rencontre avec les bactéries se produit au hasard, au grès des mouvements du liquide et selon sa viscosité.

le phage s'adsorbe à la surface de la cellule grâce à l'interaction très spécifique d'un site de fixation porté par le phage avec un site récepteur de l'enveloppe de la cellule.

80% des phages d'une population peuvent être adsorbés en 10 min de contact avec une culture bactérienne sensible, ce pourcentage pouvant varier selon les conditions physicochimiques du milieu.

Après l'adsorption, l'ADN est injecté dans la bactérie et la coque reste à l'extérieur.

La rencontre entre un phage et une bactérie peut donner 2 résultats différents :

La bactérie meurt en libérant dans le milieu quelques dizaines ou centaines de nouveaux phages = **cycle lytique** ou cycle virulent ou cycle de multiplication végétative.

L'ADN du phage détourne à son profit les synthèses de la bactérie et commande la production de nouveaux phages dans le milieu → 10 à 140 min, souvent 30 min.

La capacité des phages à la multiplication est plus grande que celle des bactéries dans les mêmes conditions. C'est pour cela qu'on peut noter des ralentissements importants de l'acidification même si le nombre de phages est faible au départ.

Le phage cohabite à l'état latent de façon durable avec la bactérie, qui est dite alors « **Lysogène** » = **cycle tempéré**, qui se produit rarement, avec seulement certains types de phages.

L'ADN du phage prend alors le nom de **prophage**, maintenu dans cet état par une protéine appelée répresseur. L'ADN du phage se réplique à chaque génération → caractère héréditaire de la lysogénie.

Cette bactérie lysogène est résistante aux phages identiques ou aux prophages qu'elle héberge mais reste sensible aux autres phages.

Il se trouve en permanence des phages libres dans une culture de bactéries lysogènes : la culture se développe normalement.

Avec ces cultures, il est nécessaire de se méfier de l'utilisation de plusieurs ferments d'origine différente non conçus pour être ensemble → difficulté de fermentation si les mécanismes phagiques se déclenchent.

2.1.5. METHODES DE DETECTION DES PHAGES

Plusieurs méthodes ont été développées pour la détection des phages en usine. On distingue les méthodes directes et les méthodes indirectes. Les premières mesurent l'effet du phage sur un échantillon du lait ou du lactosérum et les secondes mesurent la présence du phage lui-même

La majorité des usines agroalimentaires utilise le test d'activité pour déterminer la présence de phages dans un échantillon (5)

Méthodes indirectes :

Le test d'activité : Un échantillon de lait ou de lactosérum suspecté de contenir des phages était mélangé à une souche pure dans un milieu gélosé. La présence de phage était confirmée avec l'apparition de zone de lyse à la surface de la gélose.

Le test de Pearce : Les échantillons suspectés de contenir des phages sont traités comme pour un test d'activité habituel mais ils subissent en plus, tous les traitements de chaleur infligés lors du processus de fabrication du fromage

Le test de l'indicateur : Fait intervenir un indicateur coloré de pH (le bleu de méthylène, bromocrésol pourpre). L'indicateur est ajouté à 10ml de la solution. En effet s'il y a baisse de pH le bleu de méthylène devient incolore ou le bromocrésol pourpre passe du bleu au jaune. En présence de phage la baisse de pH est ralentie et le changement de couleur ne se fait pas.

Le test de turbidité : elle compare l'absorbance mesurée à **600 nm** de **10 ml** solution à analyser, et d'un échantillon suspecté de contenir des phages incubés pendant au moins **6 heures** à **30°C**. La DO mesurée dans un échantillon qui ne contient pas de phages sera supérieure à celle d'un échantillon contaminé par des phages.

Le test d'impédance : basé sur les modifications des propriétés électriques du lait (5). La présence de phage affecte l'impédance électrique et la conductance du lait. Lors du ralentissement de la production d'acide, la quantité de métabolites présents dans le milieu est affectée et l'impédance aussi. Mesuré par un bactomètre.

Toutes ces méthodes peuvent être utilisées en industrie. Mais, leur premier désavantage est d'être indirectes. En plus de ne pas mettre en évidence le phage lui-même, elles présentent d'autres inconvénients.

Méthodes directes Il existe seulement quelques méthodes directes de détection des phages de *L. lactis*. Leur avantage majeur est de détecter le phage lui-même dans l'échantillon à analyser

L'utilisation de sondes génétiques : les chercheurs ont développé trois sondes génétiques dirigées contre les espèces c2 ,936et P335. Chacune des sondes permet de détecter tous les phages de la même espèce

L'utilisation de tests immunologiques : des études ont montré que les phages d'une même espèce possèdent un profil protéique similaire, en particulier au niveau des protéines majeures de structure. Les phages de l'espèce c2 ont tous trois protéines majeures ayant une très grande homologie en acides aminés. Les phages des espèces 936et P335 ont une seule protéine majeure. Il est donc possible de produire des anticorps contre les phages de même espèce

3. MEURES PREVENTIVES CONTRES LES ATTAQUES PHAGIQUES

Pour faire face à ces risques de perte d'acidification au cours de la fermentation en fromagerie trois mesures préventives sont prises

3.1. NETTOYAGE ET DESINFECTION

Le nettoyage est l'action de rendre net un milieu en supprimant toute salissure ou tout élément nuisant à la propreté. C'est une opération très importante pour :

- limiter le développement des microorganismes.
- optimiser le rendement des appareils.

La désinfection est l'élimination ou inhibition des microorganismes présents dans un milieu (objet ou surface ou machine) ; Par conséquent chaque nettoyage doit être obligatoirement suivi d'une désinfection(6) (7).

Plan de nettoyage

Il est impératif pour une société travaillant dans le secteur alimentaire de mettre en place un plan de nettoyage et de veiller au strict respect des procédures mises en place. Ce n'est que de cette manière que la société pourra garantir le maintien de la propreté de son entreprise à tout endroit et à tout moment. La responsabilisation du personnel dans cette démarche est indispensable. L'élaboration d'un plan de nettoyage et de désinfection dépend de la situation hygiénique dans laquelle se trouve l'entreprise. Un état des lieux est donc nécessaire avant de construire le plan. L'état des lieux permet l'identification de tous les points critiques à maîtriser.

Contrôle du nettoyage et désinfection

Le contrôle du nettoyage et désinfection est réalisé de deux façon : la 1^{er} consiste a un travail de suivie de contrôle visuel afin de s'assurer de la propreté des locaux, machines et ustensiles ; la 2^{eme} consiste à la réalisation des tests microbiologiques afin de s'assurer que le programme de nettoyage et désinfection demeure efficace.

3.2 MODULE INJECTION FERMENT (MIF)

Le MIF est un appareil d'injection de ferment constitué d'un bol d'injection de ferment protégé par du plexiglas .le MIF est lié automatiquement à la salle de contrôle qui gère l'ouverture de vanne de passage du lait pasteurisé pour être ensemencé.

1.3. LES PARAMETRES PHYSICOCHEMIQUES DE LA FERMENTATION

Les caractéristiques physico-chimiques du fromage dépendent à la fois de la technologie de fabrication et des caractéristiques (chimiques et microbiologiques) des laits mis en œuvre. Les paramètres de contrôle les plus importante dans le processus de fermentation du lait c'est le ph et l'acidité

3.1.1 Potentiel hydrogène (PH)

Le ph c'est un paramètre qui révèle l'activité des ferment au cour de la fermentation. Selon la FAO le ph final de fermentation est de 4,4à 4,2 après 18h de fermentation.

3.1.2 Acidité tirable

Suivre l'évolution de l'activité des ferments lactiques dans leur fonction d'acidification pour la mesure de l'acidité du lait et du lactosérum.

C'est l'acidité dosable par la soude en présence de phénolphtaléine comme indicateur coloré

Matériels et méthodes

1 Prévention contre les phages

La prévention contre les bactériophages se base sur le contrôle de plusieurs paramètres

- ❖ Hygiène du matériel et locaux de transformation du lait
- ❖ Hygiène parfaite dans la préparation des ferments
- ❖ Suivi des paramètres physicochimiques de fermentation du lait

1.1 Hygiène des locaux et du matériel de préparation du lait.

1.1.1 NEP (nettoyage en place)

Ce nettoyage est automatisé, il est réalisé par la station NEP (Nettoyage En Place) qui permet de nettoyer les installations de l'usine. Elle est constituée de quatre compartiments (tableau5):

-Compartiment de l'eau neuve : Contient l'eau de réseau utilisée pour le rinçage final de l'installation.

-Compartiment de l'eau récupérée : Contient l'eau de rinçage final du dernier nettoyage qui sera utilisée pour le pré rinçage d'un éventuel nettoyage :

-Compartiment de la soude (NaOH).

-Compartiment de l'acide (HNO₃).

La station de NEP est liée au système de la salle de contrôle. Le nettoyage s'effectue automatiquement comme l'indique le tableau n°2 :

La NEP (tableau 2)

Phase	Fluide	Température	Temps de	Objectif
-------	--------	-------------	----------	----------

			séjour(s)	
Prélavage	Eau propre	Ambiante		Eliminer les traces de produits restants
Lavage	Solution de la soude	80°C-90°C	420	Eliminer les traces de matières grasses désinfection
Rinçage intermédiaire	Eau propre	Ambiante		Eliminer les traces de la soude et le tartre (neutralisation)
Désinfection	Solution acide	60°C-70°C	900	Désinfection et détartrage
Rinçage final	Eau propre	Ambiante	1200	Eliminer les traces d'acide (neutralisation)

1.1.2 Contrôle microbiologique de l'eau de rinçage finale

On réalise des prélèvements de l'eau de rinçage finale des tanks de maturation et des machines de conditionnement aux quels on pratique des analyses microbiologiques

Les analyses microbiologiques ont pour but de détecter une contamination et de garantir la qualité du nettoyage et de bon fonctionnement des équipements. On s'intéresse à la recherche des germes totaux et les bacilles.

On cherche les bacilles et germe totaux par méthodes d'ensemencement en profondeur sur de boite de pétris dans les milieux BCP et PCA (composition en annexes).

Mode opératoire

Sous la haute :

- ✓ On note les informations sur la boite de pétri à ensemercer
- ✓ On prélève par une pipete 1ml de l'eau de rinçage final
- ✓ On dépose l'échantillon dans la boite

- ✓ On verse le milieu de culture
- ✓ On laisse gélifier à température ambiante
- ✓ On met les boîtes dans l'étuve à 37°C pendant 72h

La lecture des boîtes incubées se fait dans la salle de lecture microbiologique et les boîtes lues sont mises dans des sacs autoclavables sont autoclavées puis jetées avec les déchets.

1.2 suivie des paramètres physico chimiques au cours de la fermentation

Le laitensemencé est stocké dans les tanks de maturation pour la fermentation. Les ferments abaissent le pH du milieu par une production d'acide lactique. Une température est fixé pour favorisé l'action du ferment mésophile. La fermentation dure environ 18h et doit produit une acidité de 56 à 57°D et un $\text{pH} < 4,5$; l'évolution de la fermentation est suivie par mesure du pH et d'acidité chaque heure à partir de 8h de fermentation

Le PH

Mode opératoire

Etalonner le ph mètre (fig4) à l'aide des deux solutions tampon ph4 et ph 7
 Introduire l'électrode du ph mètre dans l'échantillon à tester
 Mesurer le ph de l'échantillon
 Noter la valeur du ph



Fig. 5 : ph mètre

Acidité titrable:

C'est l'acidité dosable par la soude en présence d'un indicateur.

Mode opératoire

Remplir la burette de la solution de NaOH N/9 et la fixer au statif. Régler le niveau du liquide à zéro. À l'aide de la pipette de 10 mL, prélever 10 mL de lait et transférer dans la fiole conique de 100 mL. Ajouter 5 gouttes de solution de phénolphaléine et titrer jusqu'à apparition d'une couleur rose persistante. Noter le volume de solution titrante utilisé en dixièmes de millilitres(fig4).

Nombre de dixièmes de millilitre de NaOH = °D

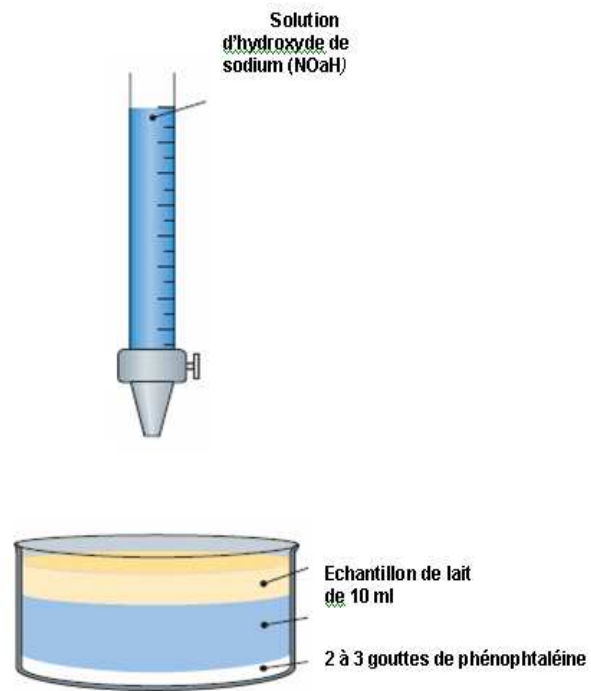


Fig6 : Le tirtage

Résultat et discussion

1. Plan de nettoyage

1.1. Plan de nettoyage de l'environnement machine

Le nettoyage est une opération primordiale dans l'industrie agroalimentaire d'où il est nécessaire de mettre en place un plan de nettoyage qui prend en compte les opérations à effectuées, leurs fréquences ; les operateurs ; les produits et les utiles utilisés

Les tableaux 3, 4et 5 résument ce plan de nettoyage

Tableau 3 : le plan de nettoyage de l'environnement machine

Opérations	Fréquences	Opérateurs	Produits	Outils
Externe, Bas et Haut de la machine	Fin conditionnement	Responsable hygiène	-Eau + Savon poudre (5g/l) - Topax	-Seau -Brosse en plastique -chiffon
Entrée machine	NEP	Responsable hygiène	-Topax M63	-Seau -Brosse en plastique
-Partie dosage -HOTTE	-NEP -Après nettoyage machine conditionnement	Conducteur machine	-Topax M63 -Oxonia	- Eponge, seau - Lunette de sécurité
Sortie machine : -Convoyeurs étiqueteuses - Convoyeurs casiers	Fin conditionnement	Responsable hygiène	-Topax M63 -Eau+ savon poudre 5g/l -Alcool 90°	-Eponge, Brosse a manche -Tuyau d'eau
Evacuation des déchets	En continu	Responsable hygiène	-Eau	-Tuyau d'eau -Raclette -Sac en plastique
Pompe arôme	1fois	Conducteur machine	-Oxonia	
Surface de contact (Doseur/Carton ou plastique)	Fin conditionnement	Conducteur machine	Eau + Savon poudre + Alcool 90°	-Brosse en plastique -Tuyau d'eau

1.2. plan de nettoyage du MIF

Tableau 4 : le plan de nettoyage de MIF

opération	Fréquence	Operateurs	Produits	Outils
Hygiène de l'environnement			Eau +Savon poudre	Brosse chiffon éponge
Intérieur et Extérieur du plexiglass			Eau + savon poudre	Brosse chiffon éponge
Filtre	Une fois par semaine			Stérilisation pendant 30min
Boite de ferment	Chaque utilisation		Oxonia	

1.3. Plan de nettoyage environnement

Tableau 5 : plan de nettoyage de l'environnement

opération	Fréquence	Operateurs	Produits	Outils
Sol	En continu	Responsable hygiène	Eau de javel+Savon poudre	Brosse chiffon éponge
Murs et carrelage	En continu	Responsable hygiène	Eau + savon poudre	Brosse chiffon éponge
Air	En continu	Responsable hygiène	Filtre à air	Maintenance des filtres

2. Contrôle microbiologique de l'eau de rinçage finale de la NEP

L'analyse microbiologique des boites de l'eau de rinçage montre des résultats négatifs, donc il n'y a pas de développements de microorganisme dans les boites de pétrisensemencées ce qui prouve que :

→L'acide utilisé joue le rôle d'un désinfectant, donc la concentration utilisé et le temps de séjour sont suffisants pour détruire la totalité des germes présents dans la machine.

→La NEP est un système de nettoyage efficace car il utilise des produits et des désinfectants fort et capable de nettoyer et désinfecté les matériels

3. Le suivie des paramètres de fermentation

La fermentation est régie par des paramètres qui réagissent en fonction des conditions de croissance des différents micro-organismes mis en culture ainsi que de l'objectif fixé préalablement. Ces paramètres de contrôle de la fermentation sont essentiellement la température le pH et l'acidité ; ils sont contrôlés dans les tanks (TM1, TM2et TM3).

Le suivie régulier du PH et de l'acidité au cours de la fermentation nous a permis d'obtenir les résultats qui figurent dans les tableaux 6, 7,8et9

Suivie du ph TM1

Courbe du PH TM1

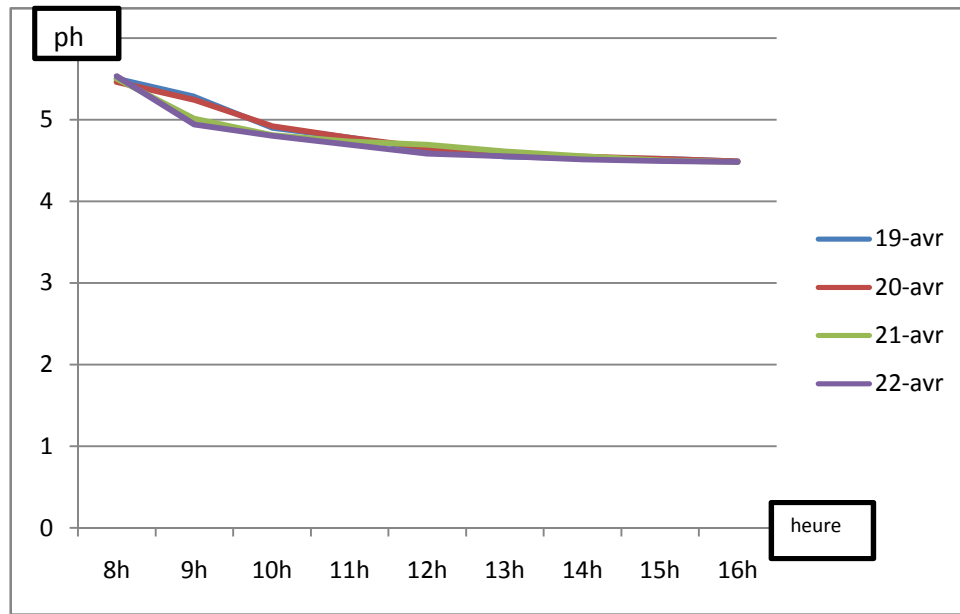


Fig7 : Courbe d'évolution du ph au cours de la fermentation(TM1)

Suivie du ph de TM2

Courbe de ph TM2

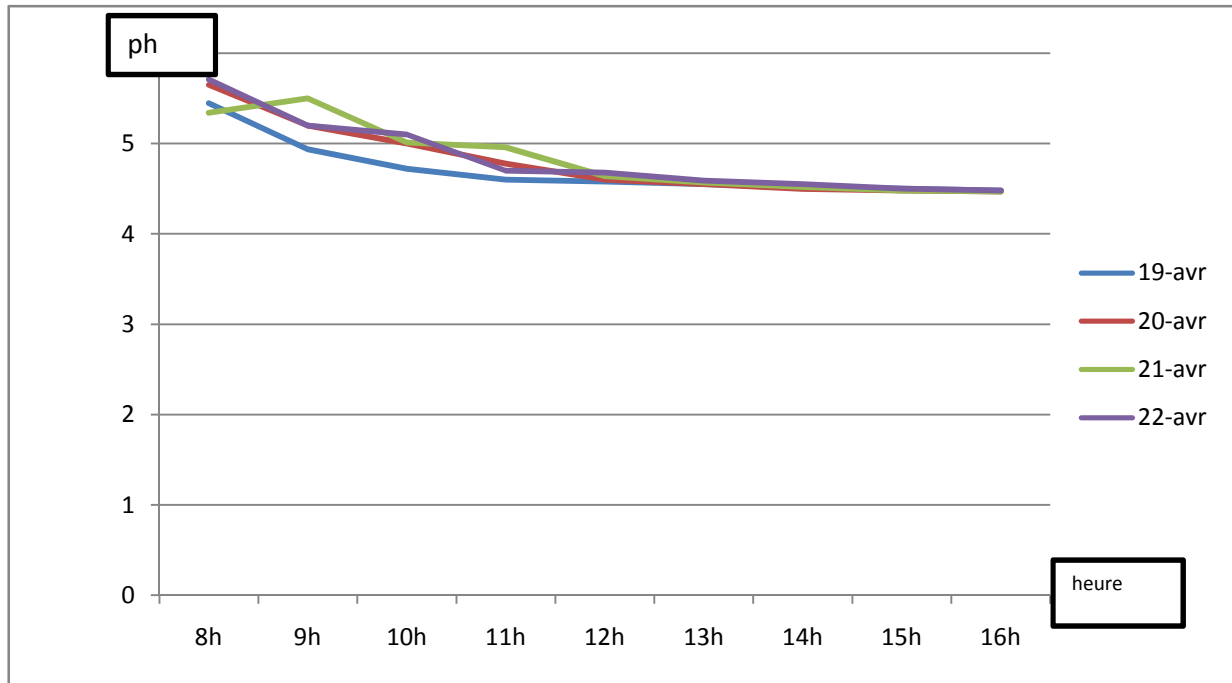


Fig 8 : Courbe d'évolution du ph au cours de la fermentation(TM2)

Suivie du pH_{TM3} Courbe de pH (TM3)

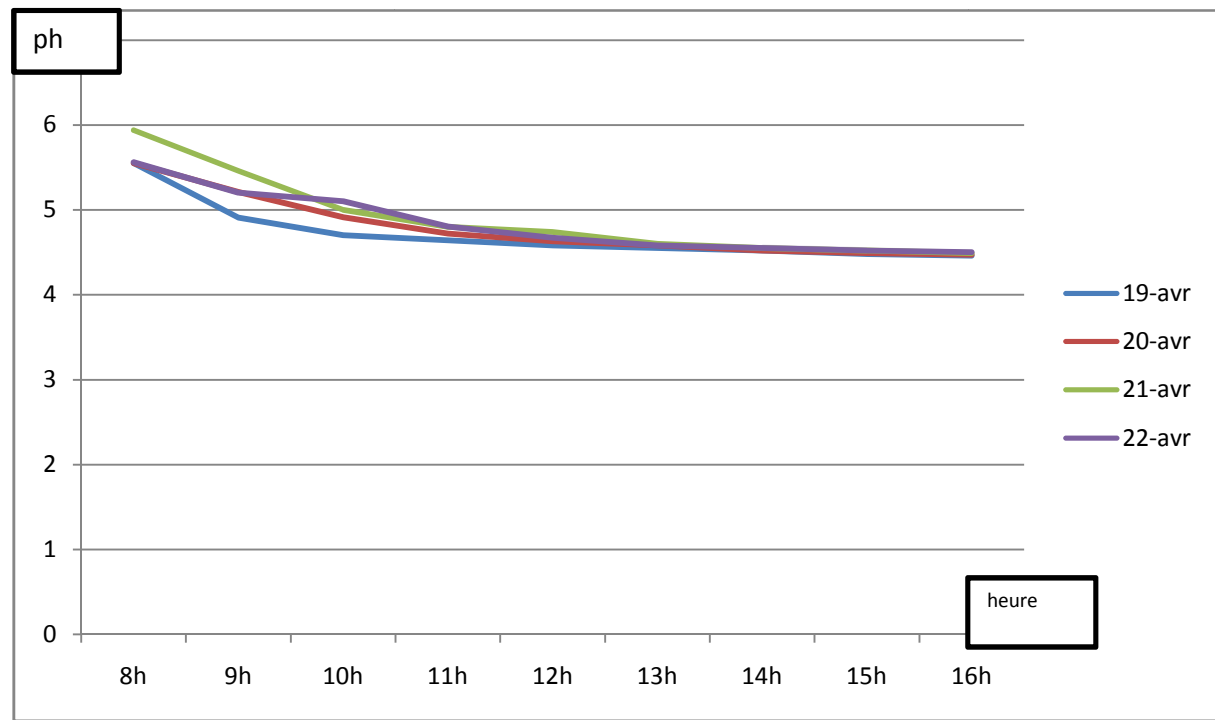


Fig 9 : Courbe d'évolution du pH au cours de la fermentation(TM3)

La fermentation est un phénomène qui est mis en évidence par la diminution de ph au cours des heures de fermentation

Les ferments dégradent le lactose du lait en acide lactique et c'est cette production d'acide qui est responsable de la diminution du ph et l'augmentation de l'acidité au cours de la fermentation.

Les courbes des figures (7, 8 et 9) représentent la diminution du ph au cours de la fermentation du fromage à partir de 8h de fermentation en fonction de temps.

C'est au bout de plusieurs jours de suivie de fermentation de fromages qu'on a pu constater les résultats suivants:

- Le fromage atteint après 16h de fermentation un ph entre 4.4 et 4.5
- Le ph de la fermentation est conforme à la norme de la fermentation car le ph final de fermentation selon la FAO est de 4,2 à 4,5 après 16h de fermentation
- Le fromage après 16h de fermentation atteint une acidité entre 51°D et 54°D
- La valeur de l'acidité augmente et la valeur du ph diminue

Conclusion

Au cours de notre stage qui s'est effectué à la centrale laitière de Meknès (annexe1), nous avons pu avoir l'opportunité de découvrir un métier sous toutes ses formes, de comprendre de manière globale les difficultés que les responsables peuvent rencontrer dans la production du lait et en particulier lors de la transformation du lait aux fromages frais.

En effet, une des contraintes c'est la contamination par des bactériophages qui peuvent altérer la qualité de la production et menacent l'industrie fromagers d'où l'installation des moyens préventives pour limiter cette contamination.

D'après les résultats obtenues lors des taches effectués tout au long de se stage à la centrale laitières de Meknès, nous avons constaté que la centrale n'est pas affecté par des phages car cela est prouvé par des analyses de détection des bactériophages réalisées dans des laboratoires spécialisés Cette absence de contamination est le fruit d'une hygiène rigoureuse à la quelle nous avons attribué et qui passe par le plan de nettoyage de l environnement, le plan de nettoyage de l environnement machine , le plan de nettoyage MIF et le suivie du PH et d'acidité au cours de la fermentation.

L ENEP se révèle efficace car les résultats des analyses microbiologiques sont négatifs

Le suivie des paramètres physicochimiques a savoir le PH et l'acidité est inversement proportionnelle : le PH commence à 5,5 est fini à 4,4 et l'acidité démarre à 18 pour se retrouver à 51-55 enfin de fermentation ; ce ci témoigne d un bon produit fini donc d'une bonne prévention.

De plus et afin de garantir une sécurité alimentaire, la centrale laitières de Meknès a mis en place les systèmes HACCP cette organisation s'appuie sur la traçabilité, sur la maîtrise de la chaîne du froid, sur la multiplication des contrôles et analyses. la régularité et la permanence des principaux indicateurs de la qualité ont permis l'obtention des certification internationaux : ISO9001version 2000, AIB et ISO 22000.

Annexes

La centrale laitière

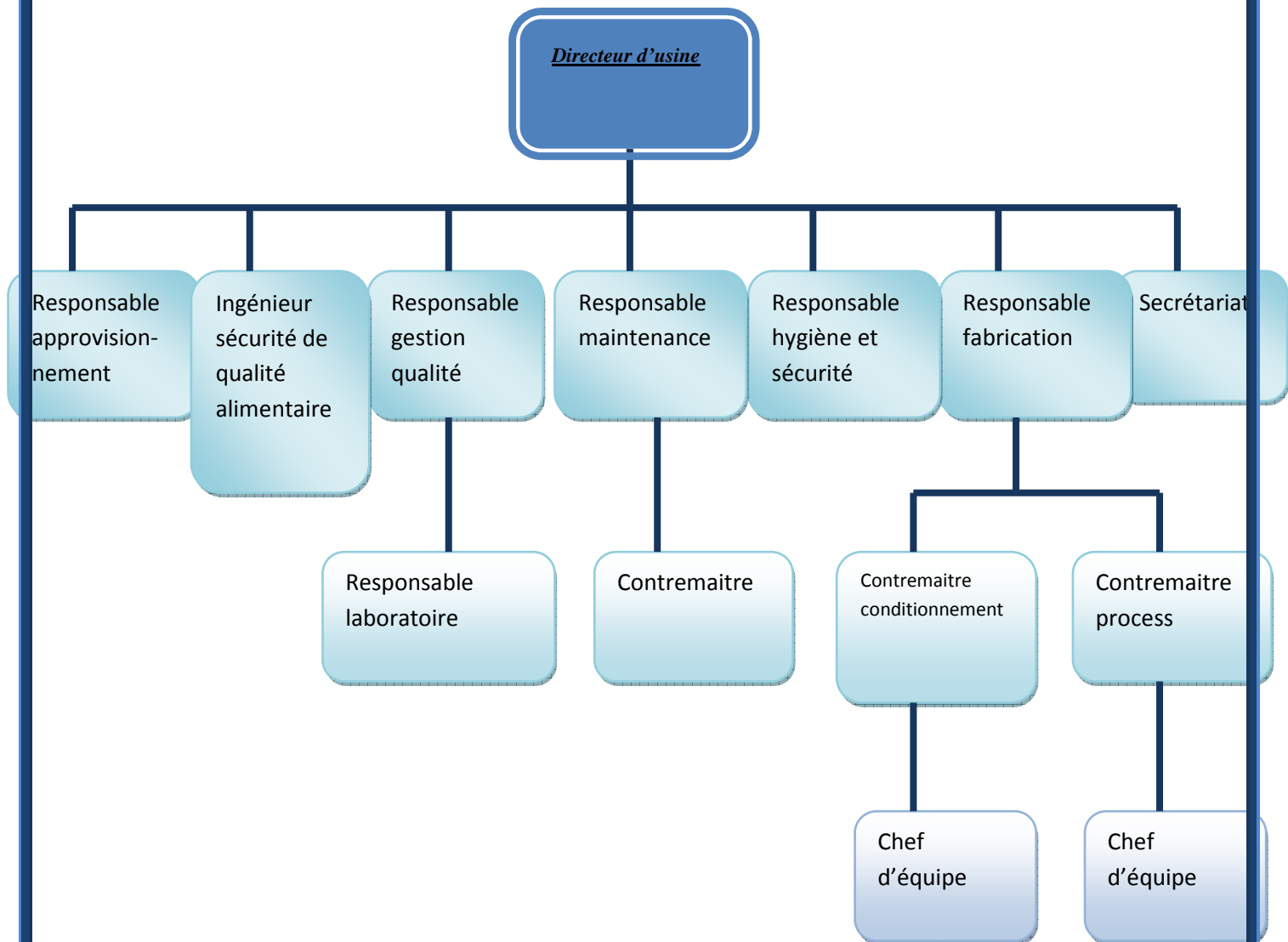


Fig.1 : Organigramme de la centrale laitière Meknès

Les ressources humaines

A la centrale laitière de Meknès, les ressources humaines sont considérées comme la richesse de l'entreprise grâce à leurs compétences et leurs savoir faire ; dans le même objectif, l'effort de formation s'intensifie, se basant sur des méthodes avancées d'évaluation.

En outre, la vision Ressources Humaines est sous la forme du concept « Le Mix du Manager », qui se compose des quatre principes :

- I. Proximité : la proximité entre les cadres et les agents est primordial, elle permet le dialogue et l'échange permanent du savoir -faire.
- II. Professionnalisme : la rigueur, la persévérance et le respect des engagements sont les composants d'une réussite professionnelle.
- III. Polyvalence : c'est en connaissant le métier des autres et en étant capable de les aider si nécessaire développe l'esprit d'équipe et l'efficacité collective
- IV. Performance : c'est le résultat optimal, chiffré obtenu et la recherche de la performance doit être permanente afin d'atteindre la perfection.

Marketing :

A la centrale laitière, le marketing est l'art de développer les marques et les produits afin de satisfaire les attentes des consommateurs ; C'est cet art qui a permis à ces marques d'être leaders sur le marché national.

Commercial :

Un réseau de distribution aussi important et aussi large est alimenté, entretenu par une force de vente particulièrement convaincante. A la recherche permanente de la proximité avec les clients, cette force de vente parcourt tout le Maroc.

Industriel :

L'outil de production de la centrale laitière fonde ses performances sur la modernisation continue des outils grâce un programme ambitieux d'investissement. Au quotidien, l'accent est mis sur la qualité, l'hygiène, la sécurité et le respect d'environnement.

A ces fonctions se rajoutent les fonctions de support : le système d'information, finance, contrôle de gestion, logistique, ...etc. qui contribuent à la création de la valeur de l'entreprise.

Milieus de cultures

Le milieu de BCP (bromocrésol pourpre)

Composition du milieu

Composition du milieu	
Peptone	5g.L-1
Extrait de viande	3g.L-1
Lactose	10g.L-1
Agar-agar	15g.L-1
Bromocrésol pourpre	0,025g.L-1

Porter le mélange à ébullition pendant une minute puis le répartir dans des flacons en verre et les stériliser à 121 °C pendant 20 minutes.

Le milieu PCA(Plate Count Agar)

Composition du milieu

Tryptone : 5,0 g/l

Extrait autolytique de levure : 2,5 g/l

Glucose : 1,0 g/l.

Agar- agar : (Biokar) 12,0 / (Difco) 15,0 g/l.

pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,0

Produits du nettoyage

Topax 63

Caractéristiques physico-chimiques

Présentation : Liquide.

Nature : Acide.

(PH à 1 % (m / v) en eau distillée à 20 °C : 1,85 + 0,5

Densité à 20 °C : 1,31 + 0,02.

Sensibilité au gel : -20 °C.

Formation de mousse : Automoussant

Oxonía

Famille: Désinfectants

Composition de la spécialité:

Peroxyde d'hydrogène	30.736
Acide peracétique	16.95
Acide peracétique	16.95
Peroxyde d'hydrogène	30.736

Référence bibliographique

- 1) **Roissart, H.: BACTERIES LACTIQUES. Luquet F.M.1994**
- 2) **Jarvis, A. W., G. F. Fitzgerald, M. Mata, A. Mercenier, H. Neve, I. B. Powell, C. Ronda, M. Saxelin, et M. Teuber. 1991. Species and type phages of lactococcal bacteriophages. Intervirology 322-9**
- 3) **Casey, C. N., E. Morgan, C. Daly, et G. F. Fitzgerald. 1993. Quarantization and classification of virulent lactococcal bacteriophages isolated from a Cheddar cheese plant J. Appl. Bacteriol. 74: 268-275.**
- 4) **Systèmes de Qualité et de Sécurité Sanitaire des Aliments - Manuel de Formation de la FAO. 2001**
- 5) **Sophie Perret du Cray /Service Développement des Entreprises/ C.C.I. Arras /avril 2008**

6) Carole-L Vignola Science et technologie du lait: transformation du lait, Fondation de technologie laitière du Québec Presses internationales Polytechnique2002

Résumé :

Ce rapport porte sur la mission de la mise en place des mesures préventives contre les attaques phagiques

Dans une première partie nous avons fait une étude bibliographique sur les phages et une deuxième partie qui portait sur les mesures préventives contre les attaques phagiques et qui consiste sur la mise en place de plan de nettoyage, le contrôle de son efficacité et le suivies des paramètres de fermentation