

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



CENTRE UNIVERSITAIRE SALHI AHMED DE NAAMA



Institut des Sciences et Technologies
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de

Master Académique

Spécialité « MICROBIOLOGIE APPLIQUEE »

Thème

**Etude physicochimique et microbiologique
d'un fromage traditionnel « jben »
fabriqué à NAAMA**

Présentée par :

M^{elle}. BOULANOUAR IMANE

Mr. TERCHOUN HEMZA

Soutenue le : 16 Septembre 2020

Soutenu publiquement, devant le jury:

Président:	Mr MERIOUA SIDI MOHAMMED	(M.C.B)
Encadreur :	Mme LAGHA NOURIA	(M.C.A)
Examineur :	Mme BENGHALEM IBTISSAM	(M.A.B)

Année Universitaire 2019/2020

Remerciements

Avant tout, je remercie Allah, le tout puissant, de m'avoir donné, la santé, la volonté et la patience pour mener à terme ce travail.

J'exprime mes profonds remerciements à Madame **LAGHA Nouria**, nous sommes vraiment chanceux de vous avoir comme promotrice, pour sa grande disponibilité, son écoute et son suivi tout au long de ce travail. Ainsi que pour sa patience et sa compréhension des situations diverses et variées tout au long de l'élaboration de ce travail.

Nos profonds remerciements vont à **Mr MERIOUA SIDI Mohammed le** président du jury d'être accepté nous présider notre travail et à notre examinatrice **Mme BENGHALEM Ibtissam** pour être accepté aussi à examiner notre travail.

Nos vifs remerciements vont également aux ingénieurs de laboratoire de microbiologie du centre universitaire pour leurs patiences et pour toutes les informations et les conseils donnés durant la mise en œuvre de notre travail.

Nos remerciements s'adressent également au directeur de CACQE NAAMA **Mr LARID MOURAD**, et à tous les ingénieurs et les techniciens de laboratoire.

Au terme de ce travail, nous ne saurons oublier de remercier **Mr JEBLI Ahmed** pour son aide, ses connaissances et ses conseils.

Merci à mes parents pour qui m'ont toujours encouragé et donné le goût d'avancer et aux personnes qui nous ont aidé directement ou indirectement.

Sincères remerciements.

Dédicace

Je remercie tout d'abord 'Dieu 'De m'avoir aidé à réaliser ce travail

Je dédis ce travaille au personnes, les plus chères au monde

Qui m'ont entouré d'amour, d'affection et de tendresse,

A la belle rose et coronaire de ma vie ma mère qui a toujours Veillé à mon bien être et mon confort.

Au secret de mon existence le meilleur père et mes chers frères et ma belle sœur Hind

A mes amis Nessrine, Amina, Halima, Fethia, et à mon collègue dans ce travail

Imane

Dédicace

*J'ai l'honneur de dédier ce modeste
travail réalisé grâce à l'aide de dieu tout
puissant*

*À Celui qui ma toujours encouragé et
soutenu durant toutes mes années
d'études.*

À la mémoire de mon père et ma mère.

À ma grand famille

*A ma femme, qui était toujours près de
moi dans les bons et les pires moments
de ma vie.*

Et ma collègue dans ce travail

Hemza

ملخص:

في جميع مناطق الجزائر، يتم إنتاج عدة أنواع من الجبن عن طريق معالجة الحليب الخام من الأبقار بالطرق التقليدية.

من بين منتجات الألبان الجزائرية التقليدية، يتم تصنيع "جبن" في عدة مناطق من البلاد بطرق مختلفة وحتى يتم تسويقها. لذلك كنا مهتمين بدراسة هذا النوع من الجبن.

تمت دراسة عينات من "الجبن" والتي تم تحضيرها على أساس المنفعة التقليدية ، وتبين التحليلات الفيزيائية والكيميائية أن "الجبن" حمضي إلى حد ما ، كما أظهرت التحليلات الميكروبيولوجية أنه غني بالكائنات الحية الخطيرة، فهو يحتوي أيضا على جراثيم التلوث.

يخبرنا وجود هذه الكائنات الحية الدقيقة الخطيرة عن عدم احترام قواعد النظافة في المزارع، مما يجعل الحليب ملوثاً وقلّة النظافة أيضاً أثناء تصنيع الجبن.

الكلمات المفتاحية: جبن ، تحاليل فيزيائية ، تحليلات ميكروبيولوجية ، بكتيريا ممرضة.

Résumé :

Dans toutes les régions de l'Algérie, plusieurs types de fromages sont issus des transformations du lait cru des bovins par des méthodes traditionnelles.

Parmi les préparations laitières traditionnelles algériennes le « Jben » est fabriqué dans plusieurs régions du pays par différentes méthodes et il est même commercialisé. Ainsi nous nous sommes intéressés à étudier ce type de fromage

Des échantillons de « jben » sont étudiés qui sont préparés à base de présure traditionnelle. Les analyses physico-chimiques montrent que notre « jben » est plus ou moins acide ainsi que les analyses microbiologiques montrent qu'il est riche en microorganismes dangereux, il contient aussi des germes de contamination.

La présence de ces microorganismes dangereux nous renseigne sur le manque de respect des règles d'hygiène au niveau des fermes, qui rendent le lait contaminé et le manque d'hygiène aussi pendant la fabrication du jben .

Mots clé : Jben, Analyses physicochimiques, analyses microbiologiques, bactéries pathogène.

Abstract :

In all regions of Algeria, several types of cheese are produced by processing the raw milk of cattle by traditional methods.

Among the traditional Algerian dairy preparations, "Jben" is made in several regions of the country by different methods and is even marketed. So we were interested in studying this type of cheese

Samples of "jben" are studied which are prepared on the basis of traditional rennet. physico-chemical analyzes show that our "jben" is more or less acidic, as well as microbiological analyzes show that it is rich in dangerous microorganisms, it also contains contamination germs.

The presence of these dangerous microorganisms tells us about the lack of respect for hygiene rules on farms, which make the milk contaminated and the lack of hygiene also during the manufacture of jben.

Keywords: Jben, Physicochemical analyzes, microbiological analyzes, pathogenic bacteria.

Liste des abréviations :

Abs : Absence.

AFNOR : Association française de normalisation.

BP : Baird-Parker.

CACQE : centre algérien de contrôle de qualité et l’emballage.

C° : Degré Celsius.

D°: Degré dornic.

EST : Extrait Sec Total.

FAO: Food and agriculture organization. (Organisation des nations unies pour l’alimentation et l’agriculture)

GD : gélose au Désoxycholate.

ml : Millilitre

MRS : Man, Rogosa et Sharp

M17: Milieu lactose d’isolment des lactocoques

NaOH : Hydroxyde de Sodium

PCA: plate Count Agar

TSI : Gélose triple Sugar Iron Agar

UFC: unité forment de colonies

VRBG: Violet Red Bile Glucose Agar

KDa : kilo Dalton

µl : Microlitre

% : Pourcentage

Liste des figures :

Figure 1 Fleur du chardon.....	13
Figure 2: Méthode de préparation de présure.....	14
Figure 3 : Carte géographique de la région de Naàma.....	21

Liste des tableaux :

Tableau 1: Composition moyenne du lait de vache (g/l).....	5
Tableau 2: Composition minérale du lait de vache.....	8
Tableau 3: Les enzymes du lait	9
Tableau 4: Germes contaminant le lait cru.....	12
Tableau 5: Composition de jben.....	16
Tableau 6: Incidence des bactéries lactiques dans les différents échantillons de Jben Naâma.....	19
Tableau 7: Résultats des analyses physico-chimiques de l'échantillon E de «jben».....	31
Tableau 8 : Résultats de dénombrement des principales flores microbiennes dans l'échantillon E de «jben ».....	32

Liste des photos :

Photo 1 : Diagramme de fabrication du fromage traditionnel «jben».....	22
Photo 2 : Résultat de la recherche des Entérobactéries sur milieu VRBG.....	33
Photo 3 : Résultat de la recherche des Coliformes sur milieu GD.....	34
Photo 4 : Résultat de la recherche des levures sur milieu Sabouraud.....	35
Photo 5 : Résultat de la recherche de Streptocoques fécaux sur milieu Rothe et milieu Eva Litsky.....	36
Photo 6 : Résultat de la recherche de <i>Staphylococcus aureus</i> sur milieu BP.....	37
Photo 7 : Résultat de la recherche de <i>salmonelle</i> sur milieu Rappaport.....	38
Photo 8 : Résultat de la recherche des Lactocoques sur milieu M17.....	39
Photo 9 : Résultat de la recherche des Lactobacilles sur milieu MRS.....	40

Table des matières :

Liste des abréviations.....	v
Liste des figures	vi
Liste des tableaux.....	vii
Liste des photos.....	viii
Introduction Générale.....	2

Première partie : Synthèse bibliographique

Chapitre I : le lait.....	5
1. Définition.....	5
2. Composition du lait.....	5
2.1. Eau.....	6
2.2. Matière grasse.....	6
2.3. Glucides.....	6
2.4. Protéines.....	6
2.4.1. Caséines.....	6
2.4.2. Lactoglobuline et lactalbumine.....	7
2.5. Sels minéraux	7
2.5.1. Calcium.....	8
2.5.2. Sodium	8
2.5.3. Potassium.....	8
2.5.4. Magnésium.....	8
2.5.5. Oligoéléments.....	8
2.6. Vitamines.....	9
2.7. Enzymes	9
2.8. Hormones.....	9
3. Principaux caractères physico-chimique du lait.....	10
4. Caractéristiques microbiologiques du lait.....	10
4.1. Microflore lactique	10
4.2. Microflore de contamination	10
4.2.1. Flore pathogène	10
4.2.2. Flore d'altération	11
5. Sources de contamination.....	11

6. Enzymes coagulants le lait.....	12
6.1. Enzymes d'origine animales.....	13
6.2. Les enzymes d'origine végétales	13
6.3. Les enzymes d'origine microbienne	13
Chapitre II : Le fromage.....	15
1. Définition.....	15
2. Les fromages traditionnels	15
2.1. Jben	15
2.2. Klila	16
2.3. Lghounanes.....	16
2.4. Takammart	16
2.5 Bouhezza	16
2.7. L'ben	17
3. Caractéristiques physiques et chimiques du Jben	17
4. Caractéristiques microbiologiques du jben	17
4.1. Flore d'altération	17
4.2. Flore pathogène	18
4.3. Flore lactique	18

Deuxième partie : Matériel et méthodes

1. Echantillonnage	21
1.1 Prélèvement	21
1.2. Lieu de travail	21
1.3. Répartition géographique.....	21
1.4 Protocole de fabrication du jben traditionnel	22
1.5. Les étapes de fabrication de fromage.....	23
1.5.1. Le Chauffage.....	23
1.5.2. L'emprésurage.....	23
1.5.3. La coagulation.....	23
1.5.4. L'égouttage.....	23
1.5.5. Le salage.....	23
1.5.6. Le moulage et démoulage.....	24
1.5.7. La conservation.....	24
2. Analyses physicochimiques du fromage « jben »	24
2.1. Détermination du pH.....	24

2.2. Acidité titrable.....	24
2.3. Mesure de l'extrait sec total.....	25
2.4. Taux d'humidité.....	25
3. Analyses microbiologiques du « jben ».....	25
3.1. Préparation de la suspension mère.....	25
3.2. Préparation des dilutions décimales.....	26
3.3. Recherche et dénombrement de la flore de contamination.....	26
3.3.1. Recherche et dénombrement de la Flore Aérobie Mésophile Totale (FTAM).....	26
3.3.2. Recherche et dénombrement des levures et moisissures.....	26
3.3.3. Recherche et dénombrement des Entérobactéries.....	27
3.3.4. Recherche des Coliformes.....	27
3.3.5. Recherche et dénombrement des Salmonelles	27
3.3.6. Recherche des Streptocoques fécaux.....	28
3.3.7. Recherche et dénombrement des Staphylocoques.....	28
3.3.8. Recherche des <i>Clostridium sulfito-réducteurs</i>	29
3.4. Dénombrement des bactéries lactiques	29
3.4.1. Les lactobacilles.....	29
3.4.2. Les Lactocoques.....	29

Troisième partie : Résultats et discussion

1. Analyse physico-chimique du « jben.....	31
2. Analyses microbiologiques.....	32
2.1. Dénombrement de la flore de contamination.....	32
2.1.1. La flore mésophile totale	32
2.1.2. Coliformes totaux.....	33
2.1.3. Levures et moisissures	34
2.1.4. Streptocoques.....	35
2.1.5. <i>Clostridium sulfito-réducteurs</i>	36
2.1.6. <i>Staphylococcus aureus</i>	36
2.1.7. <i>Salmonella</i>	37
2.2. Dénombrement de la flore lactique	38
2.2.1. Lactocoques	38
2.2.2. Lactobacilles.....	39
Conclusion.....	43
Références bibliographiques	45

Annexes

Introduction

Le lait est un aliment nutritif pour les êtres humains, mais facilement périssable et difficile à conserver, où sa transformation en produit laitier qui lui permet une conservation de longue durée (**Bencharif, 2001**).

Les fromages sont des formes de conservation et de report ancestrales de la matière utile du lait (protéines, matières grasses ainsi qu'une partie de calcium et phosphore) dont les qualités nutritionnelles et organoleptiques sont appréciées par l'homme dans presque toutes les régions du globe (**Jeantet et al., 2007**).

Plusieurs variétés de fromage fait de lait de vache, de chèvre et de brebis sont fabriquées à travers le monde, dans des fermes, suivant des techniques traditionnelles, et sont généralement conçues comme des "fromages artisanaux".

Les paramètres technologiques ont une grande influence sur les caractéristiques finales du fromage, et jouent un rôle important dans sa composition qui est considérée à la fois par les fabricants et les consommateurs comme une caractéristique spéciale des fromages artisanaux (**Randazzo et al., 2009**). Parmi les produits laitiers traditionnels, couramment consommés en Algérie, un fromage frais appelé "Jben" très populaire dans certaines régions de l'Algérie et très demandé en raison de ses agréables propriétés organoleptiques et nutritionnelles (**Bendimerad, 2013**).

L'agent coagulant le plus anciennement utilisé en fromagerie est la présure. Cette enzyme est extraite à partir de la caillette de veau ou d'agneau non sevré. Traditionnellement la présure est remplacée par « El Haka », Il s'agit d'un morceau d'estomac d'agneau ou de chevreau. D'autres régions en Algérie fabriquent le « jben » en utilisant comme agent coagulant le vinaigre ou bien des plantes ou des végétaux, par exemple l'extrait des feuilles du figuier ou les fleurs de cardon ou d'artichaut.

Ainsi nous nous sommes intéressés à étudier ce type de fromage, dans le but d'améliorer sa technique de fabrication et sa qualité nutritive et de prescrire des normes concernant tous les paramètres de fabrication et installer des mesures permettant des analyses et des contrôles du produit afin de pouvoir éliminer le risque sanitaire et permettre de commercialiser ce type de produit traditionnel sans aucune crainte et que sa vente pourra être étendue dans tout le pays.

L'objectif de notre étude est de caractériser un produit de terroir « jben » de la wilaya de Naàma , qui est fabriqué avec du lait de vache en utilisant une enzyme de nature animale « Hakka » afin de le valoriser par l'étude de leurs caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques soit la recherche de la flore pathogène et d'altération et la flore lactique présente dans le « jben ».

Première partie :

Synthèse bibliographique

Chapitre I : le lait

1. Définition :

Le lait est, le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée, il doit être propre et ne pas contenir du colostrum (Veisseyre, 1975).

Le lait est une sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou de plusieurs traites sans aucune addition ou soustraction Il est destinée à la consommation ou à un traitement ultérieur (FAO, 1998).

Le lait cru est un lait non chauffé au-delà de 40°C ni soumis à un traitement non thermique d'effet équivalent notamment du point de vue de la réduction de la concentration en micro-organismes (Deforges et al., 1999).

2. Composition du lait :

Les principales compositions du lait sont : Les lipides (triglycérides), les protéines (caséines, albumines, globulines), les glucides essentiellement le lactose, les sels (sels d'acide phosphorique, sels d'acide chlorhydrique, etc....) (Larpen, 1997).

Le lait contient également des anticorps, des vitamines, des hormones et peut parfois contenir des résidus d'antibiotiques (Vilain, 2010).

Tableau 1 : Composition moyenne du lait de vache (g/l) (Methieu, 1998).

Constituant du lait	Teneur en gramme par litre
Eau	90,2
Constituant salins minéraux	6,9
Gaz dissous	0,1
Constituant organique	1,7
Lactose	49
Matière grasse	38
Caséine	32
Protéines dites solubles	26
constituants azotés non protéiques	6

2.1 Eau :

L'eau est l'élément quantitativement le plus important : 900 à 910 g par litre. En elles, sont dispersés tous les autres constituants du lait, tous ceux de la matière sèche (**Mathieu, 1998**).

2.2. Matière grasse :

La matière grasse ou taux butyreux représente 25 à 45 g par litre (**Luquet, 1985**). Elle est constituée par 98,5% de glycérides (esters d'acide gras et de glycérol), 1% de phospholipides polaires et 0,5% de substances liposolubles cholestérol, hydrocarbures et vitamines A, D, E, et K (**Goursaud, 1985**).

2.3. Glucides :

Dans le lait de vache, les glucides sont représentés essentiellement par le lactose, ou galactosido1-4 glucose, qui est synthétisé dans la glande mammaire. C'est un disaccharide à saveur relativement peu sucrée, peu soluble, qui possède un groupement réducteur. Le lactose joue un rôle important dans les produits laitiers en tant que substrat de fermentation pour les bactéries lactiques qui l'hydrolysent en glucose et galactose, puis transforment ces hexoses en acide lactique ; le galactose subit d'abord une isomérisation en glucose-1-phosphate (**Cheftel, 1976**).

2.4. Protéines :

Le lait de vache contient 3,2 à 3.5 % (p/p) de protéines réparties en deux fractions distinctes:

- les caséines qui précipitent à pH 4,6, représentent 80 % des protéines totales,
- les protéines sériques, solubles à pH4.6, représentent 20% des protéines totales.

Cette propriété de précipitation différentielle est exploitée industriellement pour la préparation de caséines acides. Les caséines sont organisées en micelles avec la participation d'éléments minéraux colloïdaux majoritairement sous forme de phosphate de calcium.

2.4.1. Caséines :

Les caséines (α_{s1} , α_{s2} , β , κ) présentes dans le lait de vache dans les proportions 37, 10.35 et 12 % (p/p), sont synthétisées à partir de 4 gènes distincts, La diversité protéique est

accrue en raison de la présence de nombreux variant issus du polymorphisme génétique et des différences de modifications post-traductionnelles (Phosphorylation, glycosylation).

Les caséines sont de petites protéines dont le poids moléculaire varie entre 19 et 25 KDa. Elles possèdent une forte proportion d'acides aminés apolaires et d'acides aminés chargés distribués de manière non uniforme, leur conférant des propriétés amphiphiles (**Jeantet et al., 2007**).

La caséine est pauvre en acides aminés soufrés et riche en lysine. C'est pourquoi, sa valeur biologique (70 à 75 %) est inférieure aux protéines totales (85 % environ) (**Fredot, 2005**).

2.4.2. Lactoglobuline et lactalbumine :

La fraction des protéines sériques englobe toutes les protéines solubles à pH 4.6, La β Lactoglobuline, l' α lactalbumine, le bovin sérum albumine, les immunoglobulines. la lactoferrine représentent plus de 90% des protéines sériques totales.

Ce sont majoritairement des protéines globulaires présentant une grande sensibilité aux traitements thermiques, Elles sont globalement riches en acides aminés soufrés et possèdent des résidus tryptophane leur conférant une excellente valeur nutritionnelle (**Jeantet et al., 2007**).

2.5. Sels minéraux :

Bien que mineure dans la composition des laits, la fraction minérale est très importante tant d'un point de vue structural que nutritionnelle et technologique. Les nanoclusters de phosphate de calcium, associés aux phosphosérines des caséines α_{s1} , α_{s2} et β , participent à la structure et à la stabilité des micelles de caséines.

Tableau 2 : Composition minérale du lait de vache (Jeantet et al., 2007).

Eléments minéraux	Concentration (mg.kg-1)
Calcium	1043-1283
Magnésium	97-146
Phosphate inorganique	1805-2185
Citrate	1323-2079
Sodium	391-644
Potassium	1212-1681
Chlorure	772-1207

2.5.1. Calcium : 120 mg/100 ml :

Le rapport calcium/phosphore (120/85) est de 1,4, ce qui est exceptionnel. 1/4 de litre de lait (soit environ un bol) apporte 300 mg de calcium et couvre ainsi environ 30 % des apports nutritionnels conseillés en calcium.

2.5.2. Sodium : 45 mg/100 ml :

Le lait contient des quantités non négligeables de sodium. C'est pourquoi, on conseillera des laits désodés contenant seulement 2 mg de sodium/100 ml pour les personnes suivant des régimes « sans sel strict ».

2.5.3. Potassium : 150 mg/100 ml :

Le lait est pauvre en potassium.

2.5.4. Magnésium : 10 mg/100 ml :

Cette teneur est peu intéressante.

2.5.5. Oligoéléments :

Le lait contient en moyenne pour 100 ml :

- 0,1 mg de fer (cette teneur reste faible) ;
- 0,01 mg de cuivre ;
- 0,4 mg de zinc ;
- 11 µg d'iode ;
- 0,0016 mg de fluor.

Il est donc relativement peu intéressant en oligoéléments (**Fredot, 2005**).

2.6. Vitamines :

Ce sont des molécules complexes de taille plus faible que les protéines, de structure très variées ayant un rapport étroit avec les enzymes, car elles jouent un rôle de coenzyme associée à une apoenzyme protéique.

On classe les vitamines en deux grandes catégories : les vitamines hydrosolubles (vitamines du groupe B et vitamine C) de la phase aqueuse du lait, et les vitamines liposolubles (vitamines A, D, E, et K) associées à la matière grasse, certaines sont au centre du globule gras et d'autres à sa périphérie (**Debry, 2001**).

2.7. Enzymes :

Le lait, véritable tissu vivant, contient de nombreuses enzymes mais leur étude est difficile car on ne peut pas toujours facilement séparer les enzymes naturelles du lait de celles qui sont sécrétées par les microbes présents dans le liquide. D'ailleurs, les unes et les autres ont un intérêt industriel (**Veisseyre, 1975**).

Tableau 3 : les enzymes du lait (Adrain et al., 1995).

Enzymes (En U.I/100ml)	Lait cru
a- Amylase	60.000
Catalase	3
Lipase	275
Peroxydase	750
Phosphatase alcaline	3
Phosphatase acide	110

2.8. Hormones :

Ce sont des substances chimiques spécifiques produites par la glande endocrine. Ce n'est que tout récemment que des études approfondies ont été entreprises sur la présence de telles hormones dans le lait (**Hensel et al., 1980; dans Luquet, 1985**).

3. Principaux caractères physico-chimiques du lait :

Le lait est un liquide blanc, opaque, deux fois plus visqueux que l'eau, de saveur légèrement sucrée et d'odeur peu accentuée. Ses principaux caractères physiques et physico-chimiques immédiatement déterminables sont les suivants :

- densité à 15°c.....1.030 à 1.034
- chaleur spécifique.....0.93
- point de congélation.....0.55°C
- pH.....6.5 à 6.6
- acidité en degrés doronic.....16 à 18
- indice de réfraction à 20°c.....1.35

Ces chiffres concernent les laits frais et normaux (Veisseyre, 1975).

4. Caractéristiques microbiologiques du lait :

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 10^3 germes/ ml). Il s'agit essentiellement de germes saprophytes du pis et des canaux galactophores : microcoques mais aussi streptocoques lactiques (*Lactococcus* et *Lactobacillus*). D'autres microorganismes peuvent se trouver dans le lait lorsqu'il est issu d'un animal malade, ils sont généralement pathogènes et dangereux au point de vue sanitaire, Il peut s'agir d'agents de mammites (Guiraud, 1998).

4.1. Microflore lactique :

Elle fait partie de la flore normale du lait et se caractérise par son aptitude à fermenter le lactose avec production d'acide lactique et donc, abaissement du pH. Les ferments lactiques laitiers constituent un groupe diversifié de bactéries qui ont néanmoins un certain nombre de caractéristiques communes : elles sont à Gram positifs, catalase négatifs, anaérobies facultatifs ou micro-aérophiles et hétérotrophes (Alais, 1984 ; Claude et al., 1998).

4.2. Microflore de contamination :

Elle est composée de la flore pathogène et de la flore d'altération.

4.2.1. Flore pathogène :

Les bactéries les plus importantes de cette flore pathogène sont le plus souvent mésophiles et les principaux microorganismes pathogènes associés aux produits laitiers sont :

Salmonella, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Campylobacter Jejuni*, *Shigella sonnei* et certains moisissures (**Vignola, 2002**).

4.2.2. Flore d'altération :

Il s'agit essentiellement de : *Acinetobacter*, *Pseudomonas* et *Flavobacterium* qui se développent à une température entre 3 à 7°C (**Leveau et Bouix, 1993**) et *Listeria monocytogenes* capable de se multiplier aussi à des températures basses (**Rosset, 2001**).

5. Sources de contamination :

Le lait est généralement contaminé par une grande variété de microorganismes d'origine diverse. Cette contamination peut provenir de l'animal (intérieur ou extérieur de la mamelle), de l'environnement (sol, atmosphère, eau...), du matériel servant à la collecte du lait (machines à traire, filtre, récipients divers) et aussi de l'homme. Certains microorganismes constituent un danger pour la consommation du lait cru ou de produits fabriqués avec du lait cru. D'autres sont seulement des agents d'altération de ces produits, ils dégradent les composants du lait en donnant des produits de métabolisme indésirables (**Richard, 1990 ; Guiraud, 1998**).

Le lait contient peu de micro-organismes lorsqu'il est prélevé dans des bonnes conditions, à partir d'un animal sain (moins de 5000 germes/ml) (**Larpen, 1997**).

Le lait cru peut être contaminé par différents microorganismes avant, pendant et après la traite.

Tableau 4: Germes contaminant le lait cru (Jakob et al., 2009).

Sources de contamination		Psychrotrophes
Germes Gram positifs -Germes sporulé aérobies	Terre, poussière, foin (très répandu)	Certaines espèces
-Germes sporulés anaérobies (clostridies)	Ensilage, fourrage vert en fermentation, boue	Non
-Entérocoques	Fèces, résidus de lait	Non
Staphylocoques	Peau, muqueuses	Non
Microcoques	Peau, résidus de lait	Certaines espèces
-Bactéries propioniques	Peau, résidus de lait, fourrage vert en fermentation, ensilage	Non
-Bactéries lactiques	Plantes, ensilages, résidus de lait, muqueuses	Non
-Bactéries corynéformes	Peau, sol	Certaines espèces
Germes Gram négatifs -Colibactéries (<i>E. coli</i>)	Fèces, eaux usées	Non
-Entérobactéries	Plantes, fèces, eaux usées	Certaines espèces
- <i>Pseudomonas</i>	Eau, sol (très répandu)	Oui
- <i>Alcaligenes</i> , <i>Flavobacterium</i> , etc.	Eau, sol (très répandu)	Oui
Levures	Sol, plantes, résidus de lait (très répandues)	Oui

6. Enzymes coagulants le lait (présure) :

Les enzymes utilisées en fromagerie sont la présure, elle est constituée d'un mélange de chymosine (80%) et de pepsine (20%). Elle est sécrétée dans la caillette des jeunes ruminants nourris au lait (Larpent et Gourgaud, 1985).

Il y a un grand nombre d'enzymes protéolytiques, d'origine animale, végétales ou microbienne, qui ont la propriété de coaguler le lait.

6.1. Enzymes d'origine animales :

La présure est un enzyme protéolytique de poids moléculaire 40000 sécrété par pro présure, activée sous l'action de l'acidité hydrique de l'estomac, est une endopeptidase appartenant au groupe des aspartyl protéases (**Larpen, 1992**).

6.2. Les enzymes d'origine végétales :

Les préparations coagulantes provenant du règne végétale sont extraites par macération de divers organes de plantes supérieures, tel que le gaillet, l'artichaut, la chardon qui ont été et ou sont encore utilisés dans des fabrications de fromages de fermiers, ainsi que le latex du figuier Malgré les inconvénients évoqués précédemment, des études récentes ont été réalisés par différents auteurs, qui approuvent quelques avantages aux protéases extraites des végétaux. Ces dernières, sont plus stables à la chaleur par rapport aux protéases d'origine microbienne et animale (**Talantikite, 2015**).



Figure 1 : Fleur du chardon (Moustafia, 2018).

6.3. Les enzymes d'origine microbienne:

En pratique, l'utilisation des préparations enzymatiques microbiennes a été soumise à une stricte réglementation, imposant des contrôles hygiéniques (liés à leur production et extraction) et toxicologiques sévères, afin d'éviter tout risque de toxicité lié à la présence

d'antibiotiques et/ou d'aflatoxines (**Devillietetal, 1983**). Ces coagulants peuvent être facilement produits par fermentation.

Concernant l'origine bactérien les souches du genre *Bacillus* : *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus polymixa* et *Bacillus coagulans*, qui ont fait l'objet de plusieurs recherches pour la production de coagulases. Leur utilisation demeure limitée par suite de réglementation stricte et leur prix de revient. D'autre part, leur aptitude à la coagulation est meilleure que celle d'origine végétale et moins bonne que celle des enzymes produites par les moisissures (**Alais , 1984**).

Au contraire, plusieurs préparations d'origine fongiques sont déjà commercialisées sur le marché international. Ces préparations proviennent de trois genres de moisissures : *Endothiaparasitica* (*E.p.*), *Mucor pusillus* (*M.p.*), *Mucor miehei* (*M.m.*).

La figure N° 02 montre la méthode de préparation de la présure.

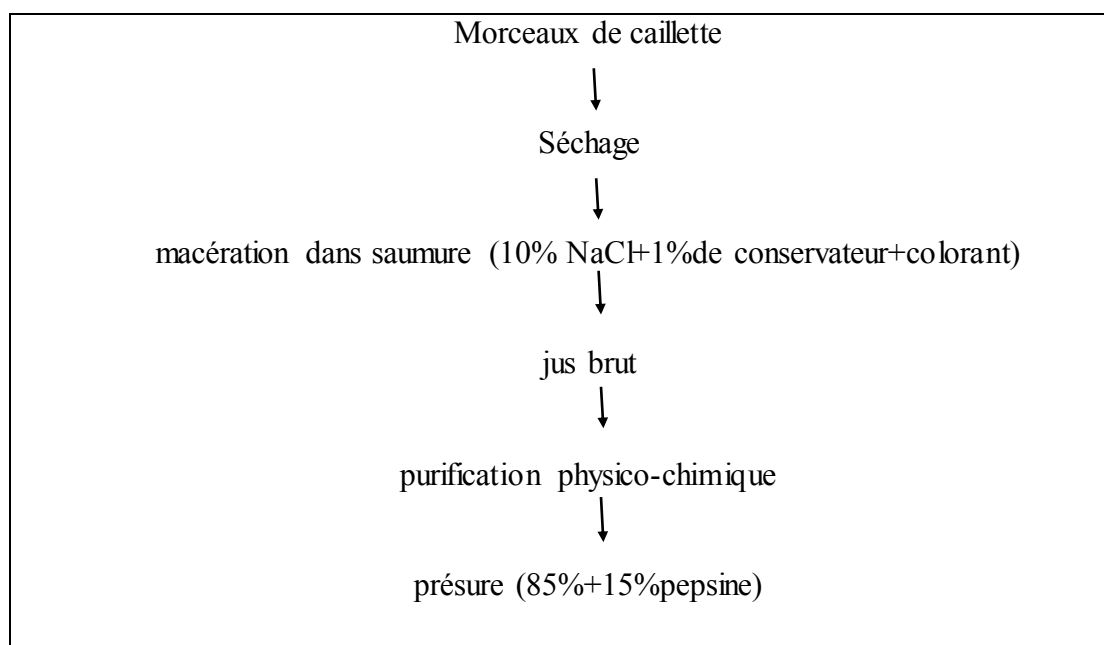


Figure 2: Méthode de préparation de présure (**ECK, 1987**).

1. Définition :

La dénomination « fromages » est réservée aux produits fermentés ou non, affinés ou non, obtenus à partir des matières d'origine exclusivement laitières suivantes : lait, lait partiellement ou totalement écrémé, crème, matière grasse, babeurre. Ces matières premières sont :

- utilisées seules ou en mélange.
- coagulées totalement ou partiellement avant ou après égouttage (Fredot, 2005).

Les fromages sont des formes de conservation et de report ancestrales de la matière utile du lait (protéines, matière grasse ainsi qu'une partie du calcium et phosphore), dont les qualités nutritionnelles et organoleptiques sont appréciées par l'homme dans presque toutes les régions du globe.

2. Les fromages traditionnels :

Selon (Nani, 2007). En Algérie, l'industrie fromagère est loin d'atteindre le niveau européen et pourtant certains fromages par le lait cru de vache, de chèvre, et parfois de brebis au niveau des fermes.

D'autres variétés sont cependant confectionnées par les populations rurales. Ils sont destinés à la consommation familiale, et parfois vendus existent depuis des siècles et sont encore fabriqués traditionnellement dans les fermes de plusieurs régions du pays.

Malgré le peu d'informations disponibles sur le sujet, on sait cependant que ces fromages ont encore leur place dans les marchés locaux. Ils sont essentiellement vendus à l'état frais, salés ou demi-salés. Ils sont fabriqués dans les marchés environnants, des fromages bien séchés qui se conservent longtemps, surtout dans les régions du sud. Ils sont fabriqués à partir de lait de chèvre, de brebis, et même de chamelle. Parmi ces fromages on peut citer :

2.1. Jben :

Fromage frais obtenu par coagulation enzymatique à l'aide de caillette d'agneau séché au soleil ou fleur de cardon sauvage (connu sous le nom de kherchouf el arab), fabriqué dans tout le pays à partir du lait de vache, de chèvre ou de brebis selon l'élevage local. Le fromage peut être salé et parfois additionné de quelques épices (Bendahou et Seradja, 2003).

Tableau 5 : Composition de jben (Abdelaziz et Ait Kaci, 1992)

Composition	Eau	Matière grasse	Protéine	Calcium
-------------	-----	----------------	----------	---------

du Jben				
Les valeurs	65,27	18,72	13,73	0,14

2.2. Klila :

Fromage fabriqué particulièrement dans l'est du pays à partir du lait de vache caillé jusqu'à séparation du lactosérum et du caillé. Le caillé est égoutté dans un tissu fin puis près à l'aide d'une pierre lourde. Le fromage obtenu peut être consommé à l'état culinaire après avoir été coupé en petits cubes et séchés au soleil **(Hellal, 2001)**.

2.3. Lghouanes :

Fromage fabriqué en Kabylie à partir du lactosérum. La préparation se fait dans un ustensile en terre cuite enduit d'huile d'olive, dans lequel sera versée une petite quantité d'eau salée puis le lait qui sera chauffé et coagulé. Le caillé formé sera découpé et prêt à être consommé **(Hellal, 2001)**.

2.4. Takammart :

Fromage du Hoggar, sa fabrication se fait par introduction d'un bout de caillette de jeunes chevreaux dans le lait. Après quelques heures, le caillé est retiré à l'aide d'une louche et déposé en petits tas sur une natte. Il sera ensuite pétri pour évacuer le sérum puis déposé sur une autre natte faite de tiges de fenouillet sauvage qui donne de l'arôme. Les nattes sont ensuite exposées au soleil durant deux jours, puis placées à l'ombre jusqu'à durcissement du fromage **(Hellal, 2001)**.

2.5. Bouhezza :

La fabrication de bouhezza est anciennement pratiquée chez les populations Chaoui qui vivent dans la région des Aurès. Sa spécificité est l'utilisation d'une peau d'animaux « chekoua » **(Aissaoui et al., 2006)**. Fabriqué à partir de lait de vache, de chèvre ou de brebis, qui. Après acidification par fermentation spontanée sera baratté. La partie aqueuse obtenue « l'ben » sera salée puis égouttée et affinée dans une outre pendant deux à trois mois. Pendant la période d'affinage, du l'ben et du sel seront ajoutés au contenu de l'outre. Le fromage ainsi obtenu sera saupoudré de piment rouge **(Hellal, 2001)**.

2.6. Madghissa :

Le fromage est connu dans la zone du Chaouia coté Est du pays. Il est préparé avec la Klila fraîche après salage et incorporation du lait frais. L'ensemble est porté à ébullition sur feu doux jusqu'à séparation du caillé et de lactosérum. Après refroidissement du mélange, la marmite est basculée pour éliminer le lactosérum. Le fromage ainsi préparé est une pâte jaune salée et élastique appelée Madghissa (**Aissaoui, 2003**).

2.7. L'ben :

Le Lben est fabriqué à partir du Rayeb qui est baratée dans une outre appelée « Chekoua » faite de peau de chèvre, le barattage dure 30 à 40 minutes. (**Ouadghiri, 2009 ; Benkerroum et Tamime, 2004**). La composition physico-chimique du Lben varie en fonction de la nature du lait utilisé, de la coagulation, de l'intensité de l'écémage et la quantité d'eau additionnée lors du mouillage (**Aissaoui, 2004**).

3. Caractéristiques physiques et chimiques du Jben :

Le fromage frais « Jben » ne présente pas de caractéristiques définies à cause des méthodes artisanales utilisées pour sa préparation reposant, essentiellement, sur les connaissances acquises à partir d'une longue expérience (**Salmeron et al., 2002**). Les arômes, les propriétés organoleptiques et les caractéristiques physico-chimiques du fromage dépendent de celles du lait cru qui à son tour dépend de la race des animaux et leur type d'alimentation (**Poznanski et al., 2004**). Généralement, Le pH (< 4,2) et l'acidité titrable (> 0,9%) sont les paramètres les moins variables du « Jben ». Cependant, les matières solides totales du « Jben » sont le facteur le plus variable car ce dernier dépend de la durée d'égouttage. Étant donné que les lipides, le lactose et les protéines constituent les principaux composants de l'ensemble des matières solides en « Jben », ils sont directement influencés par les variations des dites matières solides (**Benkerroum et Tamime, 2004**). Les caractéristiques finales d'un Jben typique sont variables et affectées par la préparation du fromage (**Ouadghiri et al., 2005**).

4. Caractéristiques microbiologiques du jben :

➤ Flore d'altération :

Ce sont des bactéries, champignons indésirables apportés par la contamination. Cette flore regroupe les bactéries thermorésistantes, les coliformes, les psychrotrophes, les levures et moisissures (**Zergoune, 2015**).

Les principaux genres identifiés comme flore d'altération sont *Pseudomonas sp*, *Proteus sp*, les coliformes soit principalement les genres *Escherichia* et *Enterobacter*, les sporulées telle que *Bacillus sp*, et *Clostridium sp*, des bactéries *psychrotrophes* et certaines levures et moisissures (Vignola, 2002).

➤ Flore pathogène :

Les bactéries pathogènes pour l'homme peuvent être présentes dans le lait cru, ou dans les produits laitiers qui en dérivent. Elles sont capables de provoquer des malaises chez les personnes qui consomment ces produits (Bouraoui, 2014).

La présence des micro-organismes pathogènes dans le lait peut avoir trois sources : l'animal, l'homme, l'environnement (Senoussi, 2013).

Les bactéries les plus importantes de cette flore pathogène sont le plus souvent mésophiles et les principaux microorganismes pathogènes associés aux produits laitiers sont : *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, et certaines moisissures (Tchamba, 2007).

Leur origine est variée ; infection mammaire, matériel de traite, ensilage. Elle présente un danger pour le consommateur (Benkerroum et Tamime, 2004).

➤ Flore lactique :

La microflore du Jben est dominée par les bactéries lactiques (10⁸ à 10⁹ ufc.g⁻¹) *Lactobacillus plantarum* et *brevis*, des *Enterococcus casei*. Parmi elles il y a *Lactococcus lactis biovar* et *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroide lactis*, (Benkerroum et Tammime, 2004).

L'intérêt technologique des bactéries lactiques réside dans la production de l'acide lactique par la fermentation du lactose.

La production d'acide lactique, en faisant baisser le pH, provoque une déstabilisation progressive de la dispersion micellaire, ce qui rend le lait de moins en moins stable aux traitements thermiques et peut entraîner sa coagulation, même à température ambiante.

Les bactéries lactiques contribuent à l'affinage des fromages. Les bactéries lactiques forment un groupe très hétérogène. Elles ont en commun les caractères suivants (Vignola et al, 2002):

- GRAM +, catalase –
- De Forme Cocci Ou Bacille

- Micro-Aérophiles Ou Anaérobies Facultatifs
- Peu Ou pas protéolytiques dans le lait.

Tableau 5: Incidence des bactéries lactiques dans les différents échantillons de Jben Naâma (Dahou et al., 2015) .

Origine du fromage	Région de Khabaza Naâma	Région de Touadjer Naâma	Région de Fortassa Naâma
Type du fromage	Jben de brebis	Jben de vache	Jben de chèvre
Espèces apparentées	Enterococcus 50% Lactococcus 35% Pediococcus 15%	Enterococcus 70% Lactococcus 30%	Lactobacillus 60% Lactococcus 25% Leuconostoc 10% Pediococcus 5%
Isolats	3	2	4

Deuxième partie :

Matériel et méthodes

1. Echantillonnage :

1.1 Prélèvement :

Un seul échantillon a été prélevé de la région d'Ain sefra wilaya de Naàma, Le prélèvement a été transporté dans une glacière. Dès l'arrivée au laboratoire, il a été mis au congélateur en attendant les analyses.

1.2. Lieu de travail :

Nous avons effectué notre travail expérimental en trois lieux :

- Fabrication de fromage traditionnel « jben » est fait dans la maison.
- Préparation des milieux de cultures est réalisée dans laboratoire du centre universitaire Salhi Ahmed de Naàma
- Les Analyses physico-chimiques et microbiologiques sont effectuées au niveau du centre Algérien du contrôle de la qualité et l'emballage.

1.3. Répartition géographique :

Naàma est une wilaya située à l'Ouest de l'Algérie, à la frontière avec le Maroc. Elle est voisine au nord avec les wilayas de Tlemcen et Sidi-Bel-Abbès, à l'est celle d'El-Bayadh et au sud avec celle de Béchar. Elle est connue par sa fabrication traditionnelle et même la commercialisation du fromage frais appelé «Jben».

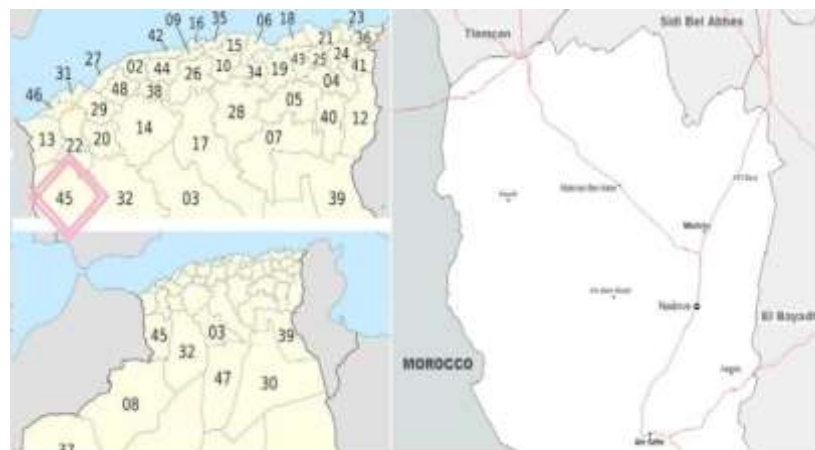
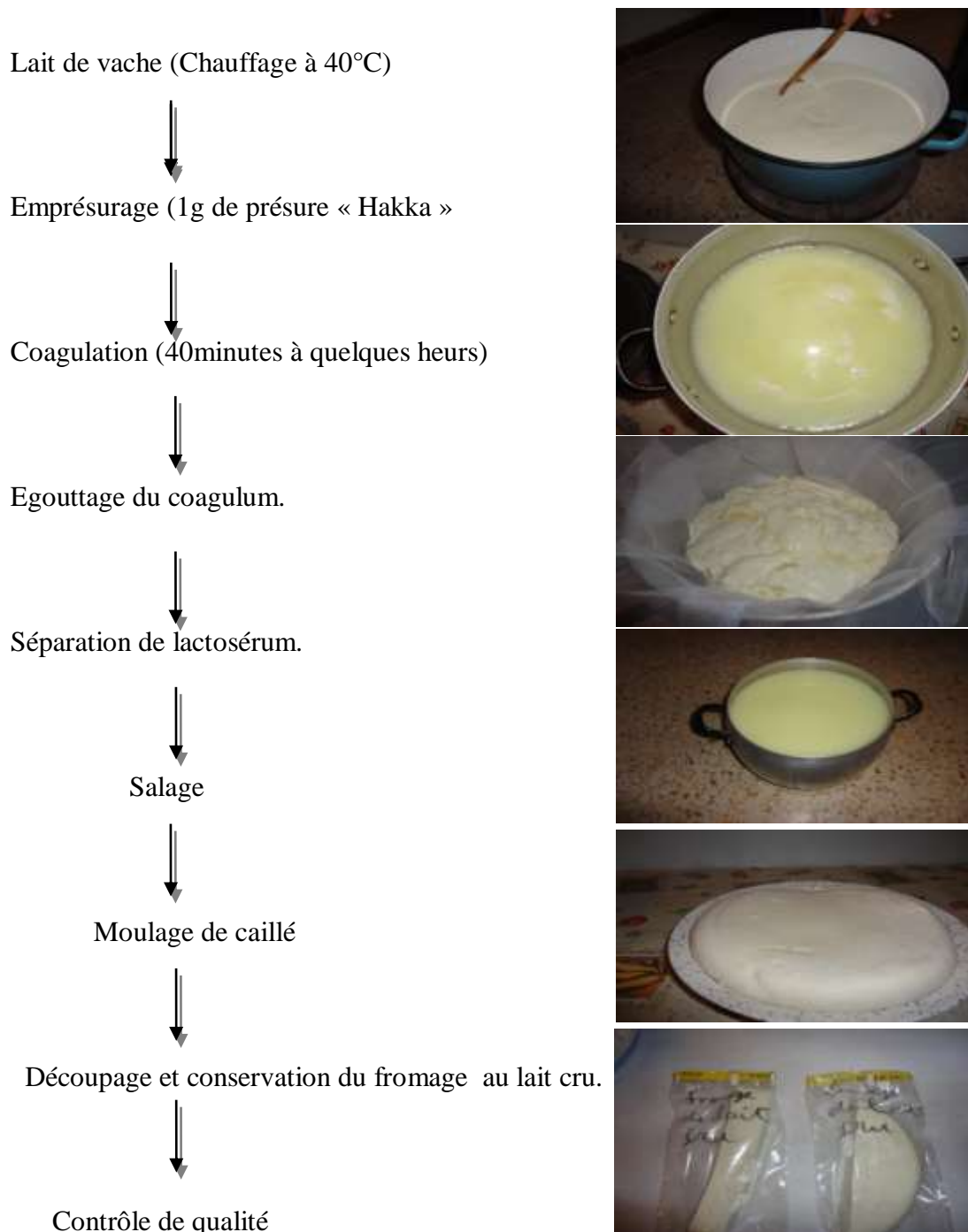


Figure 3: Carte géographique de la région de Naàma (Louis, 2015).

1.4. Protocole de fabrication du jben traditionnel:

Les méthodes utilisées pour fabriquer le fromage traditionnel « jben » de la région «Naàma » et les analyses effectuées sont résumées dans le diagramme suivant :



Photos 1: Diagramme de fabrication du fromage traditionnel « jben ».

1.5. Les étapes de fabrication de fromage :

On a préparé le fromage traditionnel « jben » à partir du lait de vache cru . La préparation se fait selon les étapes :

1.5.1. Le Chauffage :

On fait le chauffage du lait pour atteindre la température optimale ($T^{\circ}=40^{\circ}\text{C}$) pour l'activité des enzymes (accélération de la coagulation).

1.5.2. L'emprésurage :

On a utilisé 05 litres de lait additionnés de 50ml d'eau et de 01g de présure traditionnelle.

1.5.3. La coagulation :

La coagulation du lait c'est-à-dire son passage de l'état liquide à l'état gel ce qui forme le caillé. (Fredot, 2005). Sous l'action de la présure à 40°C pendant 40 minutes, la coagulation est faite.

1.5.4. L'égouttage :

L'égouttage consiste à séparer le lactosérum (liquide) du coagulum (pâte) à l'aide d'un voile sur un tamis poreux. Cette étape est réalisée pendant quelques heures.

○ Pressage du caillé :

Cette opération intervient généralement pour compléter l'égouttage. D'après Veisseyre, en 1975, le rôle du pressage est double :

- Compléter l'égouttage par élimination forcée du lactosérum.
- Donner au fromage sa forme définitive.

1.5.5. Le salage :

Après l'égouttage, on place la pâte formée dans un récipient contenant une solution de NaCl d'une concentration de 2à3g/l pendant 15 minutes, puis on fait un deuxième égouttage.

1.5.6. Le moulage et démoulage :

Le fromage ainsi séparé du lactosérum est rempli dans des moules. Le démoulage est une opération qui consiste à retirer de son moule, le fromage égoutté et mis en forme (Neyers, 1996).

1.5.7. La conservation :

C'est une étape qui consiste à mettre le fromage préparé dans un réfrigérateur à une température de 4°C jusqu'au moment d'analyses.

2. Analyses physico-chimiques du fromage « jben »:

2.1. Détermination du pH :

Après avoir étalonné l'électrode de pH-mètre par une solution tampon, 10g de l'échantillon « Jben » a été homogénéisé avec 20 ml d'eau distillée. Le pH a été déterminé en utilisant un pH-mètre numérique où l'électrode a été insérée directement dans le produit (Owusu-Kwarteng *et al*, 2012).

2.2. Acidité titrable :

➤ Principe :

Titration avec une solution de NaOH 0,1 N au point de virage du phénol phtaline.

➤ Mode opératoire :

90 ml d'eau distillée stérile est chauffé à une température de 40°C sont ajoutés à 10 g de fromage. Le mélange est bien homogénéisé, puis 10 ml de cette suspension est titrée par la soude N/9, en présence de phénol phtaléine. La phénolphtaléine indique la limite de neutralisation par changement de couleur(rose pâle), Le résultat est exprimé en degré Dornic par gramme de fromage (°D/g) (Afnor, 1986) .

➤ Expression des résultats :

Le résultat exprimé selon la formule suivante :

$$A (^{\circ}D) = \frac{ml \cdot N}{V}$$

- ml : volume en ml de NaOH 0,1 titré
- N : normalités de 0,1 N NaOH
- V : volume du suspension en ml

2.3. Mesure de l'extrait sec total :

Selon **AFNOR, (1986)**, la matière sèche ou l'extrait sec total est la masse restante après dessiccation complète.

➤ Mode opératoire :

Une prise d'essai de 5 g de fromage est introduite dans une capsule dont le poids à vide est connu. La capsule est introduite dans un dessiccateur contenant du gel de silice puis mise à l'étuve à 105°C pendant 2 h, une fois l'échantillon atteint un poids constant.

➤ Expression des résultats :

Le résultat exprimé selon la formule suivante :

$$EST = EsT = \frac{P3-P1}{P2-p1} * 100$$

Dont :

- P1 : le poids de la capsule vide.
- P2 : le poids de la capsule+ la quantité du fromage mise dedans.
- P3 : le poids de la capsule contenant le fromage après étuvage et dessiccation.

2.4. Taux d'humidité :

L'EST qui est soustrait de 100 % donne l'humidité exprimée également en pourcentage:
Hm=100-EST

3. Analyses microbiologiques du « jben » :

L'analyse microbiologique du lait et des produits laitiers est une étape importante qui vise, d'une part, à conserver les caractéristiques organoleptiques et sensorielles du lait, donc d'allonger sa durée de vie et, d'autre part, à prévenir les cas d'empoisonnement alimentaire liés à la présence de microorganismes pathogènes et à leur transmission au consommateur (**Vignola, 2002**).

3.1. Préparation de la suspension mère :

Dont le but de réduire le nombre de micro-organismes par unité de volume et pour faciliter l'examen microbiologique, on procède comme suit selon (**JORA n°70 :2004**) :

Dans un récipient stérile on pèse 10g de notre échantillon (10ml pour le lait cru) auquel on ajoute 90 ml d'eau physiologique, agiter pour homogénéiser l'ensemble du suspension

obtenue est dite suspension mère 10^{-1} .

3.2. Préparation des dilutions décimales :

- Transférer aseptiquement 1 ml de la suspension mère et l'introduire dans un tube stérile contenant 9ml de diluant, c'est la dilution 10^{-2} .
- Transférer aseptiquement 1 ml de la suspension mère et l'introduire dans un tube stérile contenant 9ml de diluant, c'est la dilution 10^{-2} .
- De la même façon les dilutions 10^{-4} , 10^{-5} sont préparés.

3.3. Recherche et dénombrement de la flore de contamination:

3.3.1. Recherche et dénombrement de la Flore Aérobie Mésophile Totale (FTAM) :

Elle représente une partie de la flore des produits et donne une bonne image du niveau de contamination.

➤ Principe :

Le dénombrement de la flore aérobie mésophile est généralement réaliser en milieu solide Plate Count Agar (PCA) et l'ensemencement est réalisé dans la masse.

➤ Mode opératoire (JORA n°70 :2004) :

- Prélever aseptiquement à l'aide d'une pipette stérile 1 ml des dilutions décimales 10^{-3} , 10^{-4} dans des boites pré-numéroté.
- Compléter par la suite avec environ 12 à 15 ml de gélose PCA.
- Homogénéiser le contenu en effectuant des mouvements circulaire en forme de 8 pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose et laisser solidifier.
- Incuber a 30°C pendant 72h.

➤ Lecture :

Après 72h, la lecture se fait en comptant les colonies blanches apparaissant sous forme lenticulaire.

3.3.2. Recherche et dénombrement des levures et moisissures :

Les levures et les moisissures sont des contaminants et agent de dégradation des produits alimentaires au point de vue qualitatif. Les levures sont des champignons unicellulaire alors que les moisissures sont des champignons filamenteux unis ou multicellulaires (Guiraud, 1998).

➤ **Principe :**

Le dénombrement se fait sur milieu Sabouraud, qui est un milieu de culture acide favorisant la culture et l'isolement des champignons et des moisissures.

➤ **Mode opératoire :**

- Dans la zone stérile Transférer à l'aide d'une pipette stérile, dans chaque boîte, 1 ml des dilutions 10^{-3} , 10^{-4} (en changeant de pipette pour chaque dilution).
- Couler dans chaque boîte de pétri environ 15 ml du milieu sabouraud.
- Mélanger soigneusement l'inoculum au milieu de culture et le laisser se solidifier.
- Après retournement des boîtes de pétri ainsi préparées, les placer dans l'étuve réglée à 25 °C pendant 5 jours.

➤ **Lecture :**

Les colonies des levures ont une forme ronde, bombées et brillantes. Pour les moisissures, les colonies sont filamenteuses à aspect veloutés.

3.3.3. Recherche et dénombrement des Entérobactéries :

Pour le dénombrement des entérobactéries 1 ml de la dilution 10^{-4} et 10^{-3} , est inoculé en profondeur sur milieu VRBG solide. Incubation 24 h à 37 °C.

3.3.4. Recherche des Coliformes:

Les Coliformes sont dénombrés sur le milieu gélose au désoxycholate les Coliformes se présentent sous forme de colonies rouges d'un diamètre de 0,5mm au moins.

On prélève 1ml de la dilution 10^{-4} et 10^{-2} on l'introduit dans la boîte de pétri.

On coule aseptiquement le milieu GD préalablement liquéfié et refroidi à 45°C, on mélange ensuite par des mouvements circulaires de va et vient sous forme de 8 pour permettre à l'inoculum de bien se mélanger à la gélose et on laisse solidifier.

On incube les boîtes à 37°C pendant 24 heures pour le dénombrement des Coliformes totaux (**Guiraud, 1998**). L'opération se fait en double.

3.3.5. Recherche et dénombrement des Salmonelles :

Recherche des salmonelles : La recherche de salmonella nécessite une prise d'essai à part, elle passe par quatre étapes :

➤ **Pré-enrichissement non sélectif :**

Ce pré-enrichissement nécessite une pesée de 25 g du fromage à analyser dans un flacon de 225 ml d'eau peptonée tomponée, et bien homogénéiser, puis incubé à 37°C pendant 16 à 20 heures.

➤ **Enrichissement sélectif :**

On prélève 0.1ml de la solution de pré- enrichissement et on met dans 10ml de milieu de rapport vassiliadis, on incube à 44°C pendant 24h.

➤ **Isolement :**

A partir des cultures obtenus à l'enrichissement sélectif on prélève avec une pipette pasteur une goutte dans la partie inférieure du tube, on la met dans le milieu gélosé Hektoen coulé puis on applique un ensemencement en surface(en strie) ; l'incubation s'effectue à 37°C pendant 24 heures.

➤ **Identification :**

L'identification est effectuée sur le milieu TSI qui est un milieu en tube solide et incliné.

On prélève, au moins cinq colonies avec une pipette pasteur stérile et on effectue un ensemencement en strie sur la surface, plus une piqûre centrale. L'incubation est à 37°C pendant 24 heures

3.3.6. Recherche des Streptocoques fécaux :

Les Streptocoques du groupe D ou Streptocoques fécaux sont recherchés en milieu liquide. La technique fait appel à deux tests à savoir :

- Le test de présomption : réservé à la recherche des Streptocoques sur milieu de Rothe ;
- Le test de confirmation Les tubes trouvés positifs sur milieu Rothe (présence d'un trouble) sont repiqué sur milieu Eva Litsky, Après 24h d'incubation à 37°C, la présence d'un trouble dans les tubes nous confirme la présence des Streptocoques fécaux (**Lebres et al., 2002**).

3.3.7. Recherche et dénombrement des Staphylocoques :

Préparation de milieu : faire fondre un flacon contenant 225ml de gélose Baird Parker, le refroidir ensuite à 45°C puis ajouter 15ml d'une solution de jaune d'œuf et mélanger soigneusement et aseptiquement puis répartir le milieu en boîtes de pétri. A partir des

dilutions décimales (10^{-1} à 10^{-5}) déposer 0.1 ml à la surface d'un milieu de BP solidifié dans une boîte de Pétri, puis étaler à l'aide d'une pipette râteau stérile. Incubé à 37°C pendant 24 heures.

➤ **Lecture des colonies :**

Les *Staphylococcus aureus* sont mannitol(+), l'utilisation de mannitol se traduira par une acidification du milieu provoquant le virage de couleur au jaune. Les colonies mannitol (+) sont entourées d'un halo jaune

3.3.8. Recherche des *Clostridium sulfite-réducteurs*:

Les spores de *Clostridia* sont recherchés sur gélose viande foie (VF) additionnée d'alun de fer et de sulfite de sodium, après avoir tué la forme végétative, 5ml de la dilution 10^{-1} et 10^{-2} sont mis dans des tubes stériles et subissent un traitement thermique à 80°C pendant 10 min. Les tubes sont ensuite refroidit à température ambiante puis 7ml de gélose VF sont rajoutées, mélangé puis incubés pendant 24h ou 48h à 44°C, Les grosses colonies noir produisant des sulfures à partir du sulfite sont des clostridies.

3.4. Dénombrement des bactéries lactiques :

3.4.1. Les lactobacilles :

La gélose MRS est utilisée pour le dénombrement et l'isolement des lactobacilles, 1 ml de la dilution est inoculé en profondeur puis les boîtes sont incubées à 30°C pendant 5 jours.

3.4.2. Les Lactocoques :

Elles sont recherché sur gélose M17 pour le dénombrement et l'isolement, 0.1 ml de chaque dilution sont ensemencé en surface puis incubée à 30°C pendant 24 h.

* Dénombrement des germes (voir annexe 2).

Troisième partie :

Résultats et discussion

En raison des circonstances qui nous entourent à cause de la pandémie Covid 19, et la dissémination de cette infection virale, dès le 15 mars jusqu'à maintenant, où toutes les universités et laboratoires ont été fermés, nous n'avons donc pas terminés nos travaux pratiques et nous avons suffi pour faire réaliser les analyses d'un seul échantillon de « jben ».

1. Analyse physico-chimique du « jben » :

Les valeurs du pH et l'acidité titrable de l'échantillon de « jben » sont représentées dans le tableau 06.

Nous avons déterminé la valeur du pH du fromage, le résultat obtenu est lu directement sur le pH mètre.

La lecture du tableau montre que notre fromage a un pH légèrement acide, et concernant l'acidité notre fromage est légèrement acide.

Tableau 7 : Résultats des analyses physico-chimiques de l'échantillon E de «jben»

Echantillon	Ph	Acidité titrable °D
E	6,4	19

➤ Le pH :

Notre type de fromage est à coagulation enzymatique. Dans les caillés typiquement présure, le gel se forme sans modification de pH, une partie importante de l'eau étant expulsée avant que le caillé s'acidifie. Le caillé présure est fortement égoutté et peu acide (**Vignola, 2002**). Les résultats se concordent aux résultats donnés par (**ECK et Gillis ,1997**), qui sont 5,5 à 6,5.

➤ L'acidité titrable :

L'acidité titrable exprime la quantité d'acide lactique produite, les valeurs obtenus se concordent aux résultats donnés par **ECK et Gillis (1997)**, (18°D à 23°D).

Pour les deux autres paramètres qui restent (l'extrait sec total et l'humidité), la teneur en matière sèche (EST) de « jben » est comprise entre 46,87% et 51,04% pour des essais réalisés par **Boufeldja Besma, en 2017**, ces valeurs sont proches à celles de est **Bouadjaib en 2013**,

Par contre, un pourcentage de 29,7% est inférieur pour un essai réalisé par (**Hamla et Belgroun, en 2019** est inférieur de la valeur précédente.

2. Analyses microbiologiques :

Les résultats des analyses microbiologiques de l'échantillon E sont motionnés dans le tableau suivant, exprimés en UFC/ml ou UFC/g.

Tableau 8: Résultats de dénombrement des principales flores microbiennes dans l'échantillon E de «jben».

Matière analysée (UFC/ml ou g)	E
Germes totaux	$0,06.10^4$
Entérobactéries	$0,016. 10^5$
Coliformes totaux	$0.96.10^3$
Levures	$1,5.10^4$
Moisissures	Abs
Streptocoques fécaux	Abs
<i>Staphylococcus aureus</i>	Abs
Salmonelle	Abs
<i>Clostridium</i>	Abs
Lactocoques	> 300
Lactobacilles	$0,08.10^4$

2.1. Dénombrement de la flore de contamination :

➤ La flore mésophile totale :

La flore aérobie mésophile totale de l'échantillon de « jben » cultivée sur le milieu PCA a révélé une valeurs moyenne de $0,06.10^4$ UFC/g .Ces valeurs sont inférieurs à celles de **Belyagoubi et Abdelouahid (2013)** pour des jben de la région de Ain Sefra **et Rhiat et al., (2011)**,et **Mennane et al., (2007)** pour des jben marocain

Une flore totale d'un « jben » est élevée quand la charge microbienne du lait est élevée, ceci est dû à un manque de respect des règles d'hygiènes. En effet le matériel de la traite, la litière, la qualité de l'air et les pratiques des éleveurs sont des sources de contamination (**Amhourri et al., 2010**).

➤ **Les Entérobactéries :**

Les Entérobactéries sont dénombrées dans le milieu VRBG. Elles sont présentes dans notre fromage, avec un taux très important.

Le résultat est motionné dans la photo N° 2.



Photo 2 : Résultat de la recherche des Entérobactéries sur milieu VRBG.

➤ **Coliformes totaux :**

La recherche et le dénombrement des coliformes sont réalisés sur milieux GD. Les coliformes sont présents dans notre échantillon.

Si on compare nos résultats avec ceux des jben Marocain décrit par **Boufeldja, (2017)** nos valeurs sont inférieures.

Le résultat est motionné dans La photo suivante :



Photo 3 : Résultat de la recherche des Coliformes sur milieu GD.

➤ **Levures :**

Dans l'échantillon E, nous remarquons une charge moins élevée des levures par rapport aux résultats à ceux de **Rhiat et al., (2011)**.

Le résultat est représenté dans la photo ci-dessous :

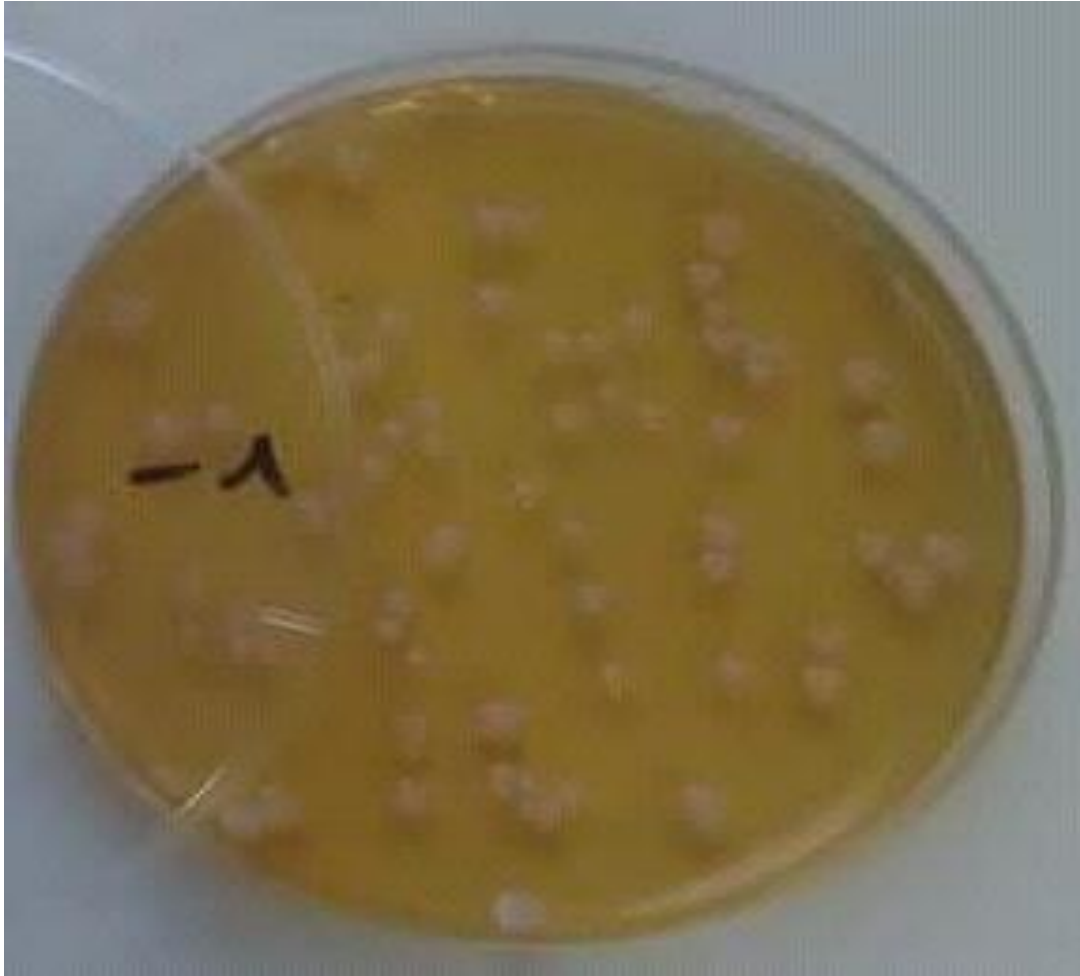


Photo 4 : Résultat de la recherche des levures sur milieu Sabouraud.

➤ **Moisissures :**

On remarque l'absence totale des moisissures sur le milieu Sabouraud, donc le fromage à analysé n'est pas contaminé par les moisissures.

➤ **Streptocoques fécaux:**

Les tubes à essais ne contiennent aucun trouble microbien, donc le fromage ne contient pas des streptocoques fécaux.

La photo ci-dessous montre l'absence des streptocoques fécaux dans le jben:



Photo 5 : Résultat de la recherche de Streptocoques fécaux sur milieu Rothe et milieu Eva Litsky.

➤ *Clostridium sulfito-réducteurs :*

On remarque l'absence des colonies dans les tubes, donc le fromage ne contient pas des Clostridium.

Ce genre de bactéries peut survivre au traitement thermique. S'ils sont présents en quantité suffisante dans le lait ou les produits laitiers, ils peuvent provoquer une détérioration ou une maladie en raison de production des toxines. L'absence de ce germe dans les échantillons analysés (lait cru, Rayeb, Klila fraîche, Jben) indique l'absence de contamination (Hamla et Belgroun, 2019).

➤ *Staphylococcus aureus :*

Le résultat enregistré est négatif, on a l'absence totale des colonies. Donc l'absence des *Staphylococcus aureus* dans le fromage, indique que le chauffage du lait pendant la préparation du fromage détruit ces germes pathogènes.

L'absence de ce germe révèle aussi la bonne conduite d'hygiène au moment de prélèvement jusqu'à la manipulation dans le laboratoire ainsi que la bonne santé de l'animale (la mamelle) (**Hamla et Belgroun, 2019**).

La photo suivante montre l'absence des *Staphylococcus aureus* dans le jben :

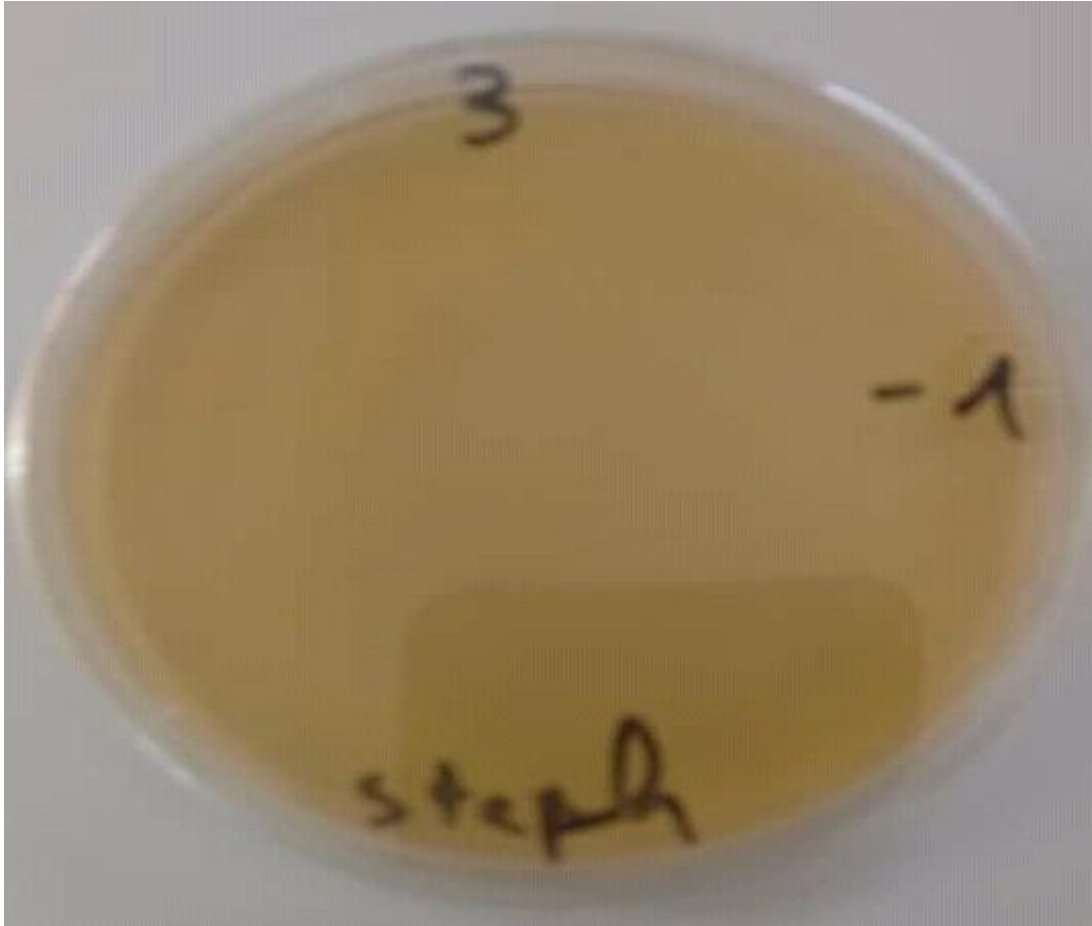


Photo 6 : Résultat de la recherche de *Staphylococcus aureus* sur milieu BP.

➤ **Salmonella :**

On remarque l'absence des colonies, donc le fromage à analysé ne contient pas de *Salmonella*.

Les principales sources de contamination sont l'excrétion fécale de salmonelles, dissémination de la bactérie dans l'environnement puis contamination de la peau des mamelles et du matériel de traite (**Guy, 2006**). Donc le résultat obtenu indique que la santé de vache et de chèvre est bonne (**Hamla et Belgroun, 2019**).

La photo suivante représente le milieu Rappaport qui indique l'absence des salmonelles



Photo 7 : Résultat de la recherche de *salmonelle* sur milieu Rappaport.

2.2. Dénombrement de la flore lactique:

On a utilisé deux milieux MRS, M17 pour le dénombrement de la flore lactique :

➤ **Lactocoques :**

Les Lactocoques sont présents dans notre échantillon dont le taux est très élevé, ces valeurs sont supérieures aux résultats mentionnés par **Bouadjaib (2013)** $4,25 \cdot 10^8$ UFC/g.

Le résultat est représenté dans la photo ci-dessous :



Photo 8 : Résultat de la recherche des Lactocoques sur milieu M17.

➤ **Lactobacilles :**

Les lactobacilles sont présents dans l'échantillon du fromage E avec un taux moins élevé. Si on compare notre résultat avec le jben de Naâma, ce dernier contient des lactobacilles dans un seul échantillons étudiés (**Dahou et al., 2015**).

Le résultat est représenté dans la photo suivante :

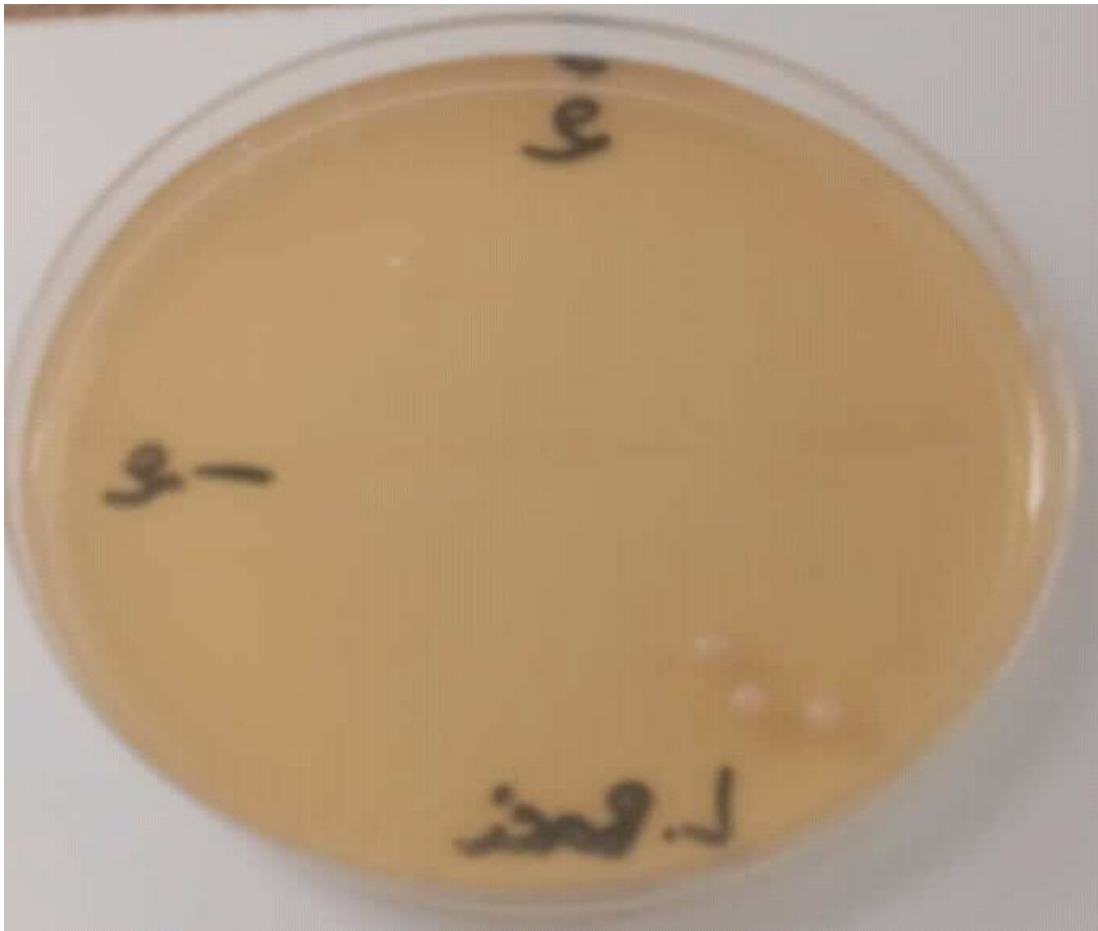


Photo 9 : Résultat de la recherche des Lactobacilles sur milieu MRS.

Conclusion

Les analyses physico-chimiques de l'échantillon de « jben » de la région de Naàma montrent des résultats variables qui diffèrent en fonction de plusieurs facteurs (la période de préparation, l'alimentation des animaux etc...). Les analyses microbiologiques montrent qu'il est riche en flore lactique mais, altérée par des Coliformes totaux, des levures et des germes aérobies. Il contient aussi des espèces pathogènes appartenant aux Entérobactéries, ceci prouve que soit, le lait utilisé pour la fabrication du jben est contaminé au niveau des fermes (écuries et étable non lavé, animaux malades, machine à traire non nettoyé etc...) ou alors pendant la fabrication du produit, les règles d'hygiène ne sont pas respectés

On peut dire alors que notre produit est classé parmi le produit à risque pour la consommation à cause de sa qualité hygiénique non satisfaisante. Ainsi nous recommandons l'arrêt de commercialisation de ce produit jusqu'à l'amélioration des procédés de fabrication en appliquant des mesures d'hygiéniques draconiennes

Afin d'améliorer la production laitière,, il est nécessaire d'appliquer une bonne hygiène de traite et une réfrigération rapide et adéquate du lait après sa collecte jusqu'à son utilisation et l'hygiène des locaux et l'alimentation des animaux. Il est évident qu'il faudrait aussi éviter toute contamination du lait au cours de la préparation du fromage que ce soit par les manipulateurs ou par le matériel et équipement laitier utilisé.

Ce travail peut être suivi selon les perspectives suivantes :

- L'identification moléculaires des souches isolées
- L'étude des caractères organoleptiques et nutritionnels du « jben » traditionnel

Références

bibliographiques

- 1- **ABDELAZIZ. S et AIT KACI F. (1992).** Contribution à l'étude physico-chimique et microbiologique d'un fromage traditionnel algérien fabriqué à partir du lait de chèvre le "Djben". Mémoire d'ingénieur d'état en agronomie. Institut national agronomique d'El Harrach,Alger. p: 67.
- 2- **ADRIAN. J, POTUS. J et FRANGNE. R. (1995).** La science alimentaire de a à z. Ed Tec &Doc Lavoisier Paris. pp : 162-255.
- 3- **AFNOR, E. (1986).** Méthodes d'essai. Recueil des normes françaises.
- 4- **AISSAOUI ZITOUN O. (2003).** Fabrication et caractéristique d'un fromage traditionnel algérien bouhezza .Thèse de magisters. INATAA. Constantine. Algérie. p: 138.
- 5- **AISSAOUI ZITOUN O. (2004).** Fabrication et caractérisation d'un fromage traditionnelle algérien « Bouhezza ». Mémoire de Magister. Université Mentouri de Constantine.
- 6- **AISSAOUI ZITOUN. O, ATTIA. H et ZIDOUN. M. N. (2006).** Le fromage traditionnel algérien "bouhezza".INSAT. Tunis (communication oral), Tunisie, vol .3, p : 118.
- 7- **ALAIS. C. (1984).** Sciences du lait. Principes de techniques laitières. 3éme édition, édition Publicité France.
- 8- **AMHOURI. F, SAIDI. B, HAMAMA. A, et ZAHAR. M. (2010).** Qualité microbiologique du lait cru: Cas de la région d'Errachidia. Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires, 18(1). pp: 31-35.
- 9- **BELYAGOUBI. L, ABDELOUAHID. D.E. (2013).**Isolation, identification and antibacterial activity of lactic acid bacteria from traditional algerian dairy products.Advances in Food Sciences. 35(1). pp: 84 - 85.
- 10- **BENCHARIF. A. (2001).** Stratégies des acteurs de la filière lait en Algérie états des lieux et problématiques. Options Méditerranéennes Série B. Etude et recherches. 32. pp:25-45.
- 11- **BENDAHOU. S et SERADJIA. N. (2003).** Fabrication fromagère. Thèse de fin d'études pour l'obtention du diplôme d'études supérieures. Université d'Oran Es-Senia.
- 12- **BENDIMERAD. N. (2013).**Caractérisation phénotypique technologique et

moléculaire d'isolats de bactéries lactiques de lait crus recueillis dans les régions de l'ouest Algérien. Essai de fabrication de fromage frais type Jben .Thèse de doctorat. Université de Tlemcen. Algérie. p: 05-74.

- 13- **BENKERROUM .N et TAMIME. (2004).** Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben and smen) to small industrial scale Food Microbiology. pp: 399–413.
- 14- **BENKERROUM .N. (2013).** Traditional Fermented Foods of North African Countries: Technology and Food Safety. pp: 54-89..
- 15- **BOUFELDJA BESMA. (2017).** Etude physico-chimique et microbiologique d'un fromage frais traditionnel « jben » fabriqué par « hakka », Mémoire de master, Université Abou Baker Belkaid Tlemcen, Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire au Biomédical et à l'environnement « *LAMAABE* ».
- 16- **HAMLA. H et BELGROUNE. K. (2019).** Fabrication et suivi des paramètres physicochimiques et microbiologiques de Jben et Klila fabriqués à partir du lait de vache et de chèvre. Mémoire de master, Université L'Arbi Ben M'hidi Oum El Bouaghi, Laboratoire de Microbiologie Appliquée.
- 17- **BOURAOUI A. (2014).** Intérêt de fabrication de fromage analogue. Mémoire master. Institut supérieur de biotechnologie de Monastir en Tunisie.
- 18- **CHEFIEL. J.C et CHEFTEL. H. (1976).** Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. Volume 1. Ed Tec & Doc Lavoisier, Paris. P:35.
- 19- **CHEFTEL. J.C. (1984).** Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. Techniques et Documentation. Edition Lavoisier. Vol. 1. pp: 54-59.
- 20- **DAHOU. A, HOMRANI. A, BENSALAH. F, et MEDJAHED. M. (2015).** La microflore lactique d'un fromage traditionnel Algérien «type j'ben»: connaissance des écosystèmes microbiens laitiers locaux et de leurs rôles dans la fabrication des fromages. Afrique SCIENCE. 11(6). pp: 1- 13.
- 21- **DERY. G. (2001).** Lait, nutrition et santé. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris.
- 22- **DEFORGES. J, DERENS. E, ROSSET. R et SERRAND. M. (1999).** Maîtrise de la chaîne du froid des produits laitiers réfrigérés. Edition Cemagref Tec et Doc, Paris.
- 23- **ECK. A. (1987).** Le Fromage. Ed ; Tech. Et Doc. Lavoisier Paris. pp : 91-145.

- 24- **ECK. A et GILLIS. J.C. (1997).** Le fromage: de la science à l'assurance qualité. 3^{ème} édition. Ed Tec & Doc Lavoisier, Paris, pp: 98-146-229.
- 25- **F.A.O. (1998).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Rome (Italie): Alimentation et nutrition. ISBN, (28). pp: 92-5-20534-6.
- 26- **FREDOT. E. (2005).** Connaissance des aliments. Ed Tec & Doc Lavoisier. Paris. pp: 289-291.
- 27- **GOURSAUD. J. (1985).** Composition et propriétés physico-chimiques. Dans Laites et produits laitiers vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits de la mamelle à la laitière. Luquet F.M.. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris.
- 28- **GUIRAUD. J.P.(1998).** Microbiologie alimentaire, microbiologie des principaux produits alimentaires. Edition Dunod.Paris. pp: 652.
- 29- **HAMAMA. A. (1989).** Qualité bactériologique des fromages frais marocains. Options Méditerranéennes-Série Séminaires, (6). pp: 223-227.
- 30- **HELLAL. A. (2001).** Fromages traditionnels algériens : Quel avenir ? Agroline (Avril-Mai) N°14. Ed TNS Communication. pp: 43-47.
- 31- **JAKOB. E, WINKLER. H et HALDEMANN. J. (2009).** Critères Microbiologiques Pour La Fabrication Du Fromage. Edition, Agroscope Liebfeld-Posieux. Groupe de discussions N° 77. F. pp: 5-31.
- 32- **JEANTET R, CROGUENNEC T, ECHUCK. P et BRULE. G. (2007).** Science des aliments. Volume 2 : technologie des produits alimentaires. Ed Tec & Doc Lavoisier, Paris. pp: 121-128.
- 33- **JORF. (2007).**N°2007-628 du 27 avril 2007.
- 34- **JORADP.(2004).** N°70 du 4 avril 2004.
- 35- **LARPENT. J.P et LARPENT-GOURGAUD. M. (1985).** Elément de microbiologie. Ed Hermann des sciences et des arts. p :350.
- 36- **LARPENT. J.P. (1997).** Microbiologie alimentaire, techniques de laboratoire. Edition TEC et DOC, Lavoisier, Paris. pp: 1073.
- 37- **LEVEAU J.Y et BOUIX. M. (1993).** Microbiologie industrielle: les micro-organismes d'interet industriel.

- 38- **LOUIS. G, 2015.**Le chardon, la mauvaise herbe qui nous débarrasse du pétrole. <https://journaldelenergie.com/petrole/le-chardon-la-mauvaise-herbe-qui-nous-debarrasse-du-petrole/>.consulté le 08.09.2020.
- 39- **LUQUET. F. M. (1985).** Laites et produits laitiers - Vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits De la mamelle à la laiterie. Tech. & Doc., Coll. STAA, Lavoisier, Paris.
- 40- **MARCHAL. N, BOURDON. J. L et RICHARD. C. (1982).** Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries.
- 41- **MATHIEU. J. (1998).** Initiation à la physicochimie du lait. Guides Technologiques des IAA. Edition Lavoisier Tec et Doc, Paris.
- 42- **MENNANE. Z, KHEDID. K, ZINEDINE. A, LAGZOULI. M, OUHSSINE. M, et ELYACHIOUI. M. (2007).** Microbial Characteristics of Klila and JbenTraditionnal Moroccan Cheese from Raw Cow's Milk. World Journal of Dairy& Food Sciences, 2(1).pp: 23-27
- 43- **MOUSTAFIA. B, 2018.**Phytoécologie de "Hammada scoparia" dans la région de Naâma (Algérie occidentale). https://www.researchgate.net/figure/Situation-geographique-de-la-zone-detude-Naama_fig2_328390850. consulté le 08.09.2020.
- 44- **NANI ABDELHAFID et SAADI KHALIL. (2007).** Comparaison entre le fromage traditionnel et industriel. Thèse d'ingénieur Université de TIARET.pp: 26-30.
- 45- **NEYRES. F. (1996).** Synthèse bibliographique sur. l'égouttage des fromages, formateur en technologie laitière. ENILIA Surgères
- 46- **NOOR-DEVELIET. P.E, GIST-BROCADES. N.N et DELFT. N.C.D. (1983).** Les Enzymes Alimentaires : Utilisation et Innocuité. Microbiol. Alim. Nut.pp: 1 : 15.
- 47- **OUADGHIRI. M, MOHAMED. A, VANCANNEYT. M, SWINGS. J. (2005).** Biodiversity of lactic acid bacteria.
- 48- **OUADGHIRI. M. (2009).** Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés «Lben» et «Jben» d'origine marocaine
- 49- **OWUSU-KWARTENG. J, AKABANDA. F, NIELSEN. D. S, TANO-DEBRAH, K, GLOVER. R. L et JESPERSEN. L. (2012).** Identification of lactic acid bacteria isolated during traditional fura processing in Ghana. Food microbiology, 32(1).pp: 72-78.

- 50- **POZNANSKI. E. L. I. S. A, CAVAZZA. A. G. O. S. T. I. N. O, CAPPA. F et COCCONCELLI. P. S. (2004)**, Indigenous raw milk microbiota influences the bacterial development in traditional cheese from an alpine natural park. *International journal of food microbiology*, 92(2).pp: 141- 151.
- 51- **RANDAZO. C.L, CAGGIA. C et NEVIANI. C.L.E. (2009)**. Application of molecular approaches to study lactic acid bacteria in artisanal cheeses. *J. Microbiol. Methods*, 78. pp: 1–9.
- 52- **RHIAT. M, LABIOUI. H, DRIOUICH. A, AOUANE. M, CHBAB. Y, MENNANE. Z et OUHSSINE. M. (2011)**. Étude bactériologique comparative des fromages frais marocains commercialisés (Mahlabats) et des fromages fabriqués au laboratoire. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 7(3).
- 53- **RICHARD. V.J. (1990)**. Production de lait cru de bonne qualité bactériologique. *Microb-Hygalim 2* (1). p: 33.
- 54- **ROSSET. R. (2001)**. Croissance microbienne et froid. Etude du cas particulier de *Listeria monocytogenes*. *Bulletin de l'Académie nationale de médecine*, 185(2).pp: 287-300.
- 55- **SALMERON. J, DE VEGA. C, PEREZ-ELORTONDO. F. J, ALBISU M et BARRON. L. J. R. (2002)**. Effect of pasteurization and seasonal variations in the microflora of ewe's milk for cheese making. *Food microbiology*, 19(2-3).pp: 167-174
- 56- **SENOUSSI. A. (2013)**. Caractérisation microbiologique de la peau de chèvre utilisée dans la fabrication du fromage traditionnel Algérien « *Bouhezza* ». Mémoire de magister. Université Constantine.
- 57- **TALANTIKITE-KELLIL. S. (2015)**. Purification et caractérisation d'une enzyme coagulante d'origine microbienne pour application en fromagerie (Doctoral dissertation).p: 27.
- 58- **TCHAMBA. C.N. (2007)**. Caractérisation de la flore lactique des laits fermentés artisanaux au Sénégal: cas de la zone des Niayes. Thèse de doctorat. Université Cheikh ANTA DIOP de Dakar. p :16.
- 59- **VEISSEYRE. R. (1975)**. Technologie du lait. Ed La Maison Rustique. Paris. pp : 432-445.
- 60- **VIGNOLA. C. (2002)**. Science et Technologie du Lait Transformation du Lait.

Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada. pp: 3-75

61- VIGNOLO. C.L. (2002). Science et technologie du lait. Canada. p: 600.

62- VILAIN. A. C. (2010). Qu'est-ce que le lait ? Revue française d'allergologie, 50(3).pp : 124-127

63- ZERGOUNE. F. (2015). La sélection des souches des bactéries lactiques protéolytiques isolées à partir d'un produit laitier fermenté artisanale à basse de lait de vache « j'ben ». Mémoire de master. Université Kasdi Merbah. Ouargla.

Annexes

Annexe 1 :**Composition des diluants (g/l) :**

- **Eau peptonée tamponée :**

NaCl	5g
Peptone	10g
Na ₂ Hpo ₄ , H ₂ o.....	9g
Kh ₂ po ₄	0.3g
Eau distillée	1000 ml

- **Eau physiologie 9 /ml NaCl :**

NaCl	9g
Eau distillée.....	1000 ml

Composition des milieux de cultures (g/l) :**I. Géloses :**

- **Gélose nutritive standard Plate Count Agar (P.C.A) :**

Hydrolysate tryptique de caséine	2,5g
Extrait de viande	5g
Glucose	1g
Extrait de la levure	2,5g
Agar	15g
Eau distillé	1000 ml

pH =7±0.2 à 37°C

- **Agar au Désoxycholate :**

Peptone viande.....	10,0 g
Lactose	10,0 g
Chlorure de sodium.....	0,5g
Rouge neutre.....	0,033g
Agar-agar.....	12.5g

Eau.....1,01ml

• **Gélose/Bouillon M17 (Terzaghi et Sandine, 1975) :**

Extrait de levure.....2,5g

Extrait de viande5g

Tryptone..... 5g

Peptone papainique.....2,5g

Peptone pepsique de viande5g

Acide ascorbique0,5g

Lactose 5g

Glycérophosphate de sodium19g

Mg SO₄..... .0,25g

Agar-agar 15g (uniquement gélose)

Eau distillée q.s.p. 1000 ml

• **Gélose/Bouillon MRS : (De Man-Rogosa-Sharpe, 1960) :**

Extrait de viande10g

Extrait de levure5g

Peptone10g

Acétate de sodium5g

Citrate de sodium.....2g

Glucose20g

MgSO₄.....25g

MnSO₄.....0,05g

KH₂PO₄.....2g

Agar-agar15 g (uniquement gélose)

Tween 80..... 1 ml

Eau distillée q.s.p..... 1000 ml

- **Viande – Foie (VF) :**

Base VF déshydraté	20g
Glucose	2g
Amidon	2g
Aga-Agar	11g
Eau distillée.....	1000 ml

pH 7,2

Autoclaver à 115 °C pendant 30 mn

- **Mac conkey :**

Peptone de caseine.....	17g
Peptone de viande	3g
Lactose	10g
Mélange des els biliaires	1,5g
Chlorure de sodium	5g
Rouge neutre	0,03g
Crystal violet	0,001g
Agar –Agar	13,5g
Eau distillée	1000ml

pH = 7,1

Autoclaver à 110 °C pendant 30 mn

- **Agar de Baird-Parker: Agar sélectif pour la culture de staphylocoques aureus :**

Extrait de viande.....	5,0g
Peptone de caséine.....	10,0g
Extrait de levure.....	1,0g
Sodium pyruvate.....	10,0g
Glucides.....	12,0g
Lithium Chlorure	5,0g

Agar-agar..... 15,0g
 Eau..... 1,01
 A ajouter émulsion de jaune d'œuf 50ml, potassium tellurite 0,15g
 pH= 7,3

• **Hektoen-gélose- : isolement des salmonelles :**

Bio-tione.....12g
 Extrait de levure.....3g
 Sels biliaires.....9g
 Lactose.....12g
 Saccharose.....12g
 Salicine.....2g
 Chlorure de sodium.....5g
 Hyposulfite de sodium.....5g
 Citrate de fer ammoniacal.....1.5g
 bleau de bromothymol.....0.064g
 Fuchsine acide.....0.040g
 Gélose.....13.5g

VRBG (violet red bille glucose) agar :

Extrait de levure.....3g
 Peptone 7g
 Chlorure de sodium.....5g
 Sels biliaires1,5 g
 Glucose10g
 Rouge neutre0,03g
 Cristal violet..... 0,002g
 Agar12g
 pH 7,4± 0,2

• **Sabouraud :**

Peptone de gélatine.....	10g
Glucose	20g
Agar.....	17g
Eau distillée.....	1000 ml

pH5.6

II .Bouillons :

• **Milieu Rappaport: Bouillon d'enrichissement pour les salmonelles :**

Peptone de caséine	5,0g
Chlorure de sodium.....	8,0g
Phosphate dipotassique.....	0,8g
Chlorure de magnésium.....	40,0g
Vert malachite.....	0.12g
Eau.....	1.0l

pH6.0±0.1

• **Milieu ROTHE (S/C) (bouillon glucose à l'azide de sodium) :**

Tryptone	20g
Glucose	5g
Chlorure de sodium.....	5g
Phosphate di potassique	2.7g
Phosphate monopotassique.....	2,7g
Azohydrate de sodium.....	0,2g
Eau distillée	1000 ml

pH 7,2

Autoclaver à 121 °C pendant 20 mn

• **Milieu EVA Litsky (bouillon glucosé à l'éthyle violet et azide de sodium) :**

Tryptone.....	20g
---------------	-----

Glucose	5g
Chlorure de sodium	5g
Phosphate di potassique	5g
Phosphate monopotassique.....	2,7g
Azothydrate de sodium	0,3g
Eau distillée	1000 ml

Solution à 0,01 g d'éthyle Violet dans 100 ml d'H₂O 5 ml

pH 7,2

Autoclaver à 121 °C pendant 20 mn

La composition des colorants de Gram :

- **Violet de gentiane au cristal :**

Violet de gentiane	10g
Phénol	20g
Ethanol à 0.95	10 ml
Eau distillée	1 ml

Lugol :

Iode	5g
Io dure de potassium	10g
Eau distillée.....	1g

Flacon brun

- **Fuchsine de Ziehl :**

Fuchsine bosique	10g
Phénol	50 g
Ethanol à 0.5	10 ml
Eau distillée	1 ml

Annexe 2 :**1 . Dénombrement des germes (selon Joffin et Joffin, 1999).****1.1. Cas où les boîtes contenant de 15 à 300 colonies :**

Retenir les boîtes contenant au plus 300 colonies au niveau de 2 dilutions successives. Il faut qu'une boîte renferme au moins 15 colonies.

Calculer le nombre N de micro-organismes par millilitre ou par gramme de produit, en tant moyenne pondérée, à l'aide de l'équation suivante :

$$N = \frac{\sum C}{(n_1 + 0.1n_2) d}$$

$$N = \frac{\sum C}{(n_1 + 0.1n_2) d}$$

$\sum c$: est la somme des colonies comptées sur toutes les boîtes retenues.

n_1 : le nombre des boîtes retenues à la première dilution.

n_2 : le nombre des boîtes retenues à la deuxième dilution.

NB : pour chaque dilution on a utilisé deux boîtes de pétri.

d : le taux de dilution de la solution mère.

1.2. Cas où le nombre de colonies est inférieur à 15 dans les deux boîtes :

On fait la moyenne des colonies comptées sur les boîtes consécutives, le résultat sera le nombre de germes estimé par gramme.

$$N = m \cdot 1/d$$

m : la moyenne : $\frac{\sum C}{\sum N}$

d : le taux de dilution de la solution mère.

NB : arrondir les résultats calculés à deux chiffres significatifs.