

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE DJILLALI LIABES DE SIDI BEL ABBES

FACULTE DE SCIENCE DE LA NATURE ET LA VIE

DEPARTEMENT BIOLOGIE

Mémoire

De Fin d'études Pour l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Science de la nature et de la vie (S.N.V)

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Intitulé du thème :

Contribution à l'étude de la diversité
microbienne du fromage fabriqué localement
type " Jben "

Présenté par : Naibcheimaa et Hanifi Farah

Mémoire soutenu devant l'honorable jury composé de :

Président de jury : **DR. BOUSMAHA-MAROKILEILA** (MCA/UDL/SBA)
Promoteur : **DR. MARROKLAHMED** (MCA/UDL/SBA)
Examinateur : **DR. KARATERKIIBTISSEM** (MCA/UDL/SBA)

ANNÉE SCOLAIRE : 2020 / 2021

REMERCIEMENT

Avant toute, nous remercions le bon dieu le tout puissant de nous avoir donné ma santé le courage, la volonté et la patience pour achever ce modeste travail.

Notre vif remerciement et notre profonde gratitude s'adressent à notre encadreur MARROKI. A qui a accepté de nous encadrer, on le remercie infiniment pour sa grande patience, ses encouragements, son aide et ses conseils judicieux, durant la réalisation du présent travail.

Nos remercier l'ensemble de la promotion Microbiologie appliquée 2020 /2021.

Nous remercions no familles pour leurs aides durant nos études et leurs soutiens.

Enfin, on adresse nos plus sincères remerciements à tous les proches, et à tous nos amis avec lesquels on a travaillé ensemble, toutes les personnes qui ont contribués de près et de loin.

DEDICACE

C'est avec une grande joie, que j'exprime ma gratitude et mes sentiments les plus nobles en dédiant ce travail à :

-Mes très chers parents pour le soutien.

-Ma grande famille.

-Tous mes amis et mes proches.

-Tous ceux qui m'ont aidé à réaliser ce travail.

-A tous ceux que j'aime.

Cheïmaa

DEDICACE

Avec l'aide de Dieu, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie À :

Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

Mes frères et sœurs pour votre soutien et encouragements, vous occupez une place particulière dans mon cœur. Je vous dédie ce travail en vous souhaitant un avenir radieux, plein de bonheur et de succès.

Farah

Table de matière

La liste des Tableaux

La liste des Figures

Liste des abréviations

Introduction.....1

Synthèse bibliographique

Chapitre I: LAIT

I. Généralités sur le lait.....3

I.1. Définition3

I.2. Composition du lait3

I.3. Caractéristique physique et chimique du lait.....4

I.4. Microflore de lait.....5

I.5. Classification des principaux microorganismes du lait selon leur importance..... 5

I .5.1. La flore originale.....5

I .5 .2.la flore d'altération.....6

I .5 .3. La flore pathogène.....6

I .5 .4. La flore psychotrope.....7

I.6. Source de contamination de lait.....7

I.7. Les enzymes coagulant le lait.....8

I.7.1. Les enzymes d'origine animale.....9

I.7.2. Les enzymes d'origine végétale.....9

I.7.3. Les enzymes d'origine microbienne.....10

Chapitre II : les produits laitiers traditionnels

I. Les produits laitiers en Algérie.....11

II. Fromage traditionnel (Jben).....11

II.1. Définition.....11

II.2. Les caractéristiques physico-chimique du Jben.....11

II.3. Microflore du Jben.....12

II.3.1. Flore lactique.....	12
a- Caractéristique des principaux genres des bactéries lactiques.....	13
• <i>Lactobacillus</i>	13
• <i>Lactococcus</i>	14
• <i>Leuconostocs</i>	14
• <i>Entérocooccus</i>	15
II.3.2. Flore d'altération.....	15
• Les coliformes fécaux.....	15
• les levures et moisissures.....	15
II.3.3. Flore pathogène.....	15
• Bactéries infectieuses.....	16
• Bactéries toxinogènes.....	16
II.4. Méthode de fabrication du Jben.....	16
II.4.1. Technologie traditionnel.....	16
II.4.2. Technologie semi- industriels.....	16
• La maturation.....	17
• Coagulation.....	17
1. Coagulation par présure.....	17
2. Coagulation par acidification lactique.....	18
• l'égouttage.....	18
II. Autre produits traditionnels en Algérie.....	19
• Raib	19
• L'ben.....	19
• Smen.....	20
Matériels et méthodes	
I. Matériel.....	21
I.1. Appareillage.....	21
I.2. Verreries et petit matériel.....	21
I.3. Milieux de culture	21
II. Méthodes	21
II.1. Objectif de l'étude	21

II.2. Echantillonnage.....	22
II.2.1. Prélèvement.....	22
II.2.2. Répartition géographique.....	22
II.3. Analyse microbiologique.....	23
II.3.1. Préparation de la solution mère.....	23
II.3.2. Dénombrement des principaux groupes microbiens.....	24
II.3.2.1. Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (FMAT).....	24
II.3.2.2. Dénombrement des levures et moisissures.....	25
II.3.2.3. Dénombrement des bactéries lactiques.....	25
II.3.2.4. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et des coliformes fécaux...	26
II.3.3. Expression des résultats.....	27
II.3.4. Critères morphologiques et biochimiques.....	27
II.3.5. Enrichissement et isolement.....	28
II.3.5.1. Identification des isolats.....	28
Résultats et discussion	
I. Analyses microbiologiques.....	31
I.1. Résultats de dénombrement et recherche des principaux groupes microbiens.....	30
I.1.1. Flore mésophile aérobie totale.....	31
I.1.2. Levures et moisissures.....	32
I.1.3. Flore lactique.....	33
I.1.4. Coliformes totaux et fécaux.....	34
II.2. Critères morphologiques et biochimiques.....	35
II.3. Identification phénotypique et biochimiques des isolats.....	38
Conclusion.....	41
Références bibliographiques	
Annexes	

Liste des tableaux

Tableau 01 : Composition chimique du lait de vache (ALAIS et al, 2008).....	3
Tableau 02 : Caractéristiques physicochimiques du lait de vache (FAO, 1998).....	4
Tableau 03 : Flore originelle du lait cru (VIGNOLA et al, 2002).....	5
Tableau 04 : Les différentes sources de contamination du lait cru (HASSAN et al, 2002).....	7
Tableau 05 : Origine des différentes enzymes utilisées pour coaguler le lait (MIETTON 1991).....	9
Tableau 06 : Composition de Jben(Abdelaziz et Ait Kaci, 1992).....	11
Tableau 07 : Recherche des principaux germes.....	23
Tableau 08 : Milieu d'enrichissement et l'isolement des bactéries isolés.....	28
Tableau 09 : Normes microbiologiques du fromage à pâte molle (J.O.R.....)	30
Tableau 10 :Résultats de dénombrement des principales flores microbiennes deJben.....	33
Tableau 11 : Les résultats différentes microflore dans notre échantillon.....	36

Liste des Figures

Figure 01: Quelques bactéries pathogènes (PRESCOTT et al, 2003).....	7
Figure 02: caillette d'agneau (BOUFELDJA, 2017).....	9
Figure 03 : le genre <i>lactobacillus</i> (DJOHRI et MADANI, 2015).....	13
Figure 04: le genre <i>lactococcus</i> (KHATER et GHEFAR, 2017).....	14
Figure 05 : Etapes de fabrication du Jben(ZIANI et GATTOUT, 2008).....	16
Figure 06 : Diagramme de fabrication artisanale des Jbens étudiés.....	19
Figure 07: produits laitier traditionnel (JBEN).....	22
Figure 08: carte géographique de la région de Mechria.....	22
Figure 09: Préparation des délutions décimales à partir de la solution mère (SMAILI et RAHMOUNI, 2015).....	23
Figure 10: protocole d'isolement de souches recherchées.....	30
Figure 11: Aspect de FMAT sur milieu PCA.....	32
Figure 12 : Aspect de levures et moisissures sur milieu OGA.....	32
Figure 13: Aspect de lactocoque sur milieu M17	33
Figure 14: Aspect de lactobacille sur milieu MRS	33
Figure 15: Aspect de coliformes totaux sur milieu VRBL.....	34
Figure 16: Aspect de coliformes fécaux sur milieu VRBL.....	34
Figure 17: l'aspect macroscopique de groupe des bactéries lactiques et flore total présent dans notre échantillon de fromage type « Jben ».....	35
Figure 18: Aspect microscopique après coloration de Gram des isolats représentatifs appartenant au FMAT (1) et coliformes totaux et fécaux (2).....	35
Figure 19: Aspect microscopique après coloration de Gram des isolats lactocoques (3) et lactobacilles (4).....	36
Figure 20: Aspect macroscopique des souches FMAT (A), <i>lactobacillus</i> (B), <i>lactococcus</i> (C) et coliformes (D).....	37
Figure 21: Aspect microscopiques et formes cellulaires ; des coques disposées en paires, diplocoques ou amas après coloration de Gram a révélé deux formes de cellules.....	38
Figure 22: Aspect microscopiques et formes cellulaires ; des bacilles disposées en paires, diplocoques ou longue chaîne après coloration de Gram a révélé deux formes de cellules.....	38

Liste des abréviations

FAO: Food and Agriculture Organization.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

UFC:Unité Formant Colon.

PCA: Plate Count Agar.

MRS: Man Rogosa Sharpe.

VRBL: Violet Red Bile Lactose Agar.

OGA:Oxytétracycline Glucose Agar.

M17: Milieu lactose d'isolement des lactocoques.

Ln :Leuconostoc

Lb :Lactobacillus.

Résumé

Les préparations des produits traditionnels à base de lait laitières en Algérie sont issues de la transformation du lait cru de vache, de chèvre, de brebis, parmi ces produits, le « Jben ». Jben est un fromage frais traditionnel fabriqué selon un protocole traditionnel à partir de lait cru de vache, de chèvre ou bien de brebis qui comprend la coagulation du lait en utilisant la présure végétale. Ce type de fromage est très estimé par les consommateurs et pourrait être promu à l'échelle nationale et internationale, si elle était fabriquée à grande échelle en respectant les normes de fabrication et de qualité. Notre étude proposée pour but de détermination et d'évaluer la microflore bactérienne initiale d'un échantillon prélevé au niveau de la wilya de Naama (Mechria) de fromage traditionnel type Jben . Les résultats de l'analyses microbiologiques de l'échantillon prélevé et examiné montrent la présence d'un taux élevé se de microorganisme qui se traduit par une charge importante de coliformes totaux et fécaux, des levures et moisissures et absence des autres pathogènes. Le taux de la flore mésophile totale enregistré est de $2,40.10^6$ UFC/g, suivi par les coliformes totaux avec un taux de $6,59.10^3$ UFC/g et un taux de $5,3.10^3$ UFC/g pour les coliformes fécaux. Aussi le nombre des levures et moisissures respectivement est de $2,3.10^4$ UFC/g et $0,56.10^3$ UFC/g .et une charge supérieur est $1,02.10^6$ UFC/g pour les lactocoques avec une faible charge est $0,93.10^3$ UFC/g pour les lactobacilles. La présence de microorganismes de contamination nous renseigne sur le manque de bonne pratique d'hygiène lors de la fabrication du fromage « Jben » et le non-respect des règles d'hygiène lors de la collecte et transport du lait au niveau des fermes en particulier : mauvais nettoyage des matériaux de collecte et stockage, machine à traire contaminé, et probablement le non-respect des procédures de collectes et conservation par le personnels de traite et collecte du lait cru destiné pour la transformation du fromage traditionnel type « Jben ».

Mot-clé : Ftraditionnel ; Jben ; Analyses microbiologiques ; Microflore ; Le lait ; Bonne pratique d'hygiène.

Abstract

The preparations of traditional products based on dairy milk in Algeria are derived from the processing of raw cow's milk, goat's milk, sheep's milk, among these products, the "Jben". Jben is a traditional fresh cheese made according to a traditional protocol from raw cow's milk, goat's milk or sheep's milk which, includes the coagulation of milk using vegetable rennet. This type of cheese is highly valued by consumers and could be promoted nationally and internationally, if it is manufactured on a large scale in compliance with the manufacturing and quality standards. Our proposed study aims to determine and evaluate the initial bacterial microflora of a sample taken at the wilaya of Naama (Mechria) of traditional cheese type Jben.

The results of the microbiological analysis of the sample taken and examined show the presence of a high rate of microorganisms which translates into a high load of total and fecal Coliforms, yeasts and molds and absence of other pathogens. The rate of total mesophilic flora recorded is $2.40 \cdot 10^6$ CFU/g, followed by total Coliforms with a rate of $6.59 \cdot 10^3$ CFU/g and a rate of $5.3 \cdot 10^3$ CFU/g for fecal Coliforms. Also, the number of yeasts and molds respectively is $2.3 \cdot 10^4$ CFU/g and $0.56 \cdot 10^3$ CFU/g and a higher load is $1.02 \cdot 10^6$ CFU/g for lactococci with a low load is $0.93 \cdot 10^3$ CFU/g for lactobacilli. The presence of microorganisms of contamination informs us about the lack of good hygiene practices during the manufacture of cheese "Jben" and the non-compliance with the rules of hygiene during the collection and transport of milk at the farm level in particular: poor cleaning of collection materials and storage, contaminated milking machine, and also the non-compliance with the procedures of collection and conservation by the milking staff and collection of raw milk intended for the processing of traditional cheese type "Jben". Also, the number of yeasts and molds respectively is $2.3 \cdot 10^4$ CFU/g and $0.56 \cdot 10^3$ CFU/g and a higher load is $1.02 \cdot 10^6$ CFU/g for lactococci with a low load is $0.93 \cdot 10^3$ CFU/g for lactobacilli. The presence of microorganisms of contamination informs us about the lack of good hygiene practices during the manufacture of cheese "Jben" and the non-compliance with the rules of hygiene during the collection and transport of milk at the farm level in particular: poor cleaning of collection materials and storage, contaminated milking machine, and also the non-compliance with the procedures of collection and conservation by the milking staff and collection of raw milk intended for the processing of traditional cheese type "Jben".

Key word: traditional ; Jben ; Microbiological analysis ; Microflora ; Milk ; Good hygienic practice.

ملخص

تحضيرات منتجات الألبان التقليدية في الجزائر تأتي من معالجة الحليب الخام من الأبقار والماعز والأغنام ، ومن بين هذه المنتجات "جبين". Jben هو جبن طازج تقليدي مصنوع وفقاً لبروتوكول تقليدي من حليب البقر أو الماعز أو الأغنام النية والذي يتضمن تخثر الحليب باستخدام منقحة نباتية. يحظى هذا النوع من الجبن بتقدير كبير من قبل المستهلكين ويمكن الترويج له محلياً ودولياً ، إذا تم إنتاجه على نطاق واسع مع مراعاة معايير التصنيع والجودة. تهدف دراستنا المقترحة إلى تحديد وتقييم البكتيريا الأولية البكتيرية لعينة مأخوذة من نعمة ويلي (مشرية) لجبن جبن التقليدي. تظهر نتائج التحاليل الميكروبيولوجية للعينة المأخوذة والمفحوصة وجود مستوى عالٍ من الكائنات الحية الدقيقة مما ينتج عنه حمولة كبيرة من القولونيات الكلية والبرازية والخمائر والعفن وغياب مسببات الأمراض الأخرى. بلغ معدل الحمولة المحبة للحرارة الكلية $2.40.106$ CFU / g ، تليها القولونيات الكلية بمعدل $6.59.103$ CFU / g ومعدل $5.3.103$ CFU / g للبكتيريا القولونية البرازية. كما أن عدد الخمائر والعفن على التوالي هو $2.3.104$ UFC / g و $0.56.103$ UFC / g والحمل الأعلى هو $1.02.106$ UFC / g للمكورات اللبنية ذات الحمل المنخفض $0.93.103$ UFC / g للعصيات اللبنية. يخبرنا وجود الكائنات الحية الدقيقة الملوثة عن عدم وجود ممارسة صحية جيدة أثناء تصنيع جبن "جبين" وعدم احترام قواعد النظافة أثناء جمع ونقل الحليب على مستوى المزرعة بشكل خاص: سوء تنظيف المواد وتجميعها وتخزينها ، وآلة الحلب الملوثة ، وربما عدم الامتثال لإجراءات الجمع والحفظ عن طريق الحلب والتجميع للحليب الخام المخصص لمعالجة الجبن التقليدي من نوع "Jben".

الكلمة الرئيسية: تقليدي ؛ جبين. التحليلات الميكروبيولوجية. ميكروفلورا. حليب ؛ ممارسة النظافة الجيدة.

INTRODUCTION

Introduction

La plupart des cultures à travers le monde connaissent le fromage, il s'agissait principalement d'une forme de conservation des principaux constituants du lait. Aujourd'hui, il s'agit plutôt d'un aliment, possédant des qualités nutritionnelles indéniables (**CHOLET, 2006**). Notre pays a une tradition bien établie sur les produits laitiers, transmise d'une génération à une autre à travers des siècles. Le lait, abondant durant certains moments de l'année est transformé en produits laitiers pour augmenter sa durabilité et sa valeur nutritive (**SANDRA et al, 2001**).

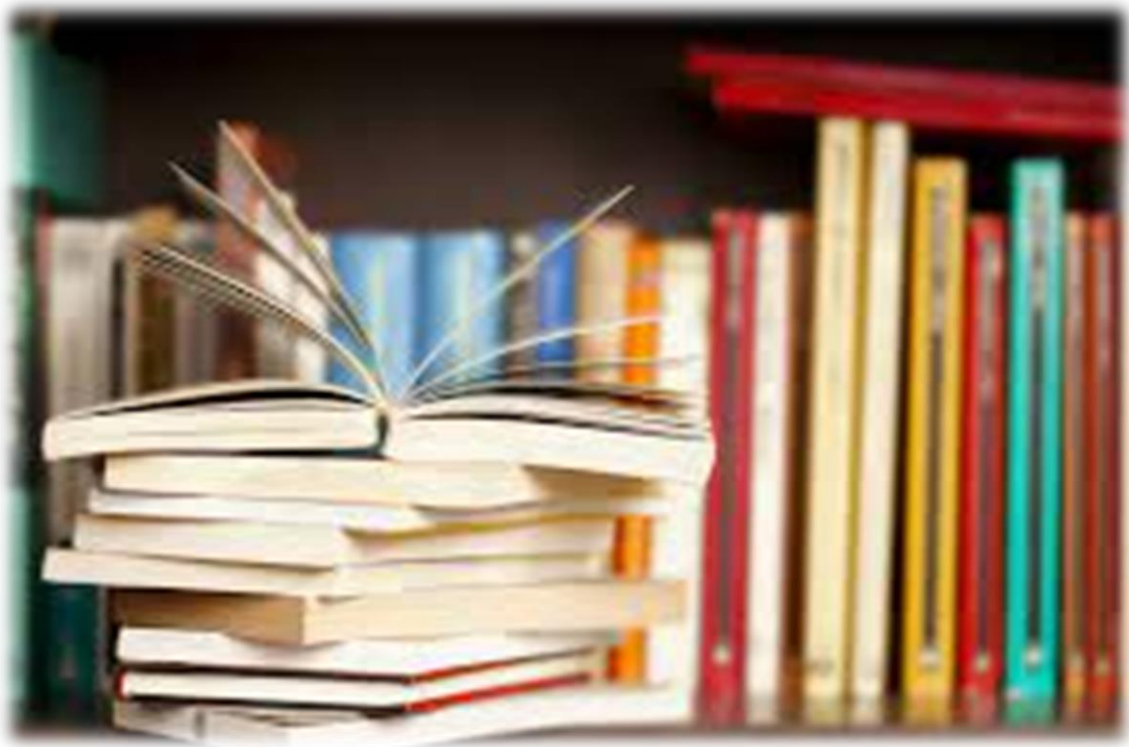
Les fromages ont une longue histoire, et ils sont traditionnellement fabriqués par des processus anciens sans addition intentionnelle de levains à partir du lait de vache, de chèvre, de brebis ou de mélanges. Le fromage naturel a toujours été une valeur sûre de l'alimentation humaine. En Algérie, au moins dix types de fromages traditionnels sont produits dans tout le territoire algérien, la majeure partie de ces produits appartient à la catégorie des fromages frais. Les plus connus sont seulement ceux portant les dénominations «Jben» et « Klila » (**HALLEL, 2001**).

El Jben est l'un des produits laitiers locaux le plus populaire (fromage traditionnel) et sa méthode traditionnelle de fabrication est encore en usage. Le jben est un fromage produite selon un protocole traditionnel à partir de lait cru de vache, de chèvre ou bien de brebis qui comprend la coagulation du lait en utilisant la présure végétale. Ce type de fromage sont très estimé par les consommateurs et pourrait être promu à l'échelle nationale et internationale, si elle sera fabriquée à grande échelle en respectant leurs caractéristiques organoleptiques agréables, car il a un goût légèrement acide et des propriétés organoleptiques agréable (**MENNANE et al, 2007**). La fabrication des fromages traditionnelle ou industriels implique l'utilisation des microorganismes diversifié composé d'une population microbienne endogène naturelle apportée par le lait cru de vache, chèvre ou brebis et l'autre organismes exogène par un ensemencement de ferments lactiques ou fongiques sélectionnés suivant le type de fromage et la technologie utilisée par le produit. A ce titre, l'étude de la microflore des écosystèmes fromagers croit ces derniers temps et de nombre considérable des travaux sont publiés consacrés à l'évaluation de microbiote du fromage traditionnel surtout dans les pays où la sécurité alimentaire pose problème. En Algérie, plusieurs travaux ont été développés pour mettre en le point sur les microorganismes jouent un rôle dans la diversité microbienne de ce produit. Cette étude proposée s'inscrit dans ce contexte, afin d'évaluer la de la diversité

Introduction

microbienne du fromage fabriqué localement type " *Jben*". L'objectifs principale recherchés à travers cette étude porte sue la détermination de la microflore bactérienne initiale d'un échantillon prélevé au niveau de la wilya de Naama (Mechria) de fromage traditionnel type *Jben*. L'étude réalisée est scindée en deux parties : Une partie bibliographique, une partie expérimentale dans laquelle les techniques utilisées pour l'appréciation de la qualité microbiologique du *Jben*, les résultats obtenus sont représentés et discutés.

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE



CHAPITRE 01

LAIT

I. Généralités sur le lait

I.1. Définition du lait

Le lait est un liquide opaque blanc mat, plus au moins jaunâtre selon la teneur en matière grasse et en bêta carotène, d'odeur peu marquée et au goût douceâtre. C'est un produit d'origine biologique fortement altérable par voie microbienne et par voie enzymatique (BENYAHIA, 2013). Il est sécrété par les glandes mammaires des femelles mammifères après la naissance du jeune (ALAIS, 1984).

Selon le Congrès International de la Répression des Fraudes à Genève, le lait a été défini comme le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum (BENHEDAN, 2012). Le lait est une sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou de plusieurs traites, destinée à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur (FAO/OMS, 2000).

I.2. Composition du lait

Le lait constitue une source nutritionnelle et énergétique importante. En effet, il contient des protéines de haute qualité et de matières grasses. En plus, il peut apporter une contribution significative aux besoins nutritionnels recommandés en calcium, magnésium, sélénium, riboflavine, vitamine B12 et acide pantothénique (ALAIS et al, 2008).

L'eau constitue la composante majeure (98%) du lait qui se divise en plusieurs phases, à savoir, une solution varie contenant les lipides, les glucides, les protides, les vitamines et les éléments minéraux (Ca^{+2} , Na^+ , K^+ , Mg^{+2} et Cl^-) (ABID, 2015).

Il contient des immunoglobulines, des hormones, des facteurs de croissance, des cytokines, des nucléotides, des peptides, des polyamines, des enzymes et d'autres peptides bioactives. Tous ces composants font que le lait est une denrée alimentaire possédant des propriétés nutritives très importantes (DAOUADI, 2006).

Le lait de vache contient 3.2 à 3.5% de protéines réparties en deux, Les caséines qui représentent 80%, et Les protéines sériques qui représentent 20% des protéines totales (JEANTET et al 2007).

Tableau 01 : Composition chimique du lait de vache (ALAIS et al, 2008).

Substance	Quantité en g/l	Etat physique des composants
Eau	905	Eau libre (solvant) Eau liée (3,7%)
Glucide : lactose	49	Solution
Lipides :	35	En solution de globules gras (3-5 μ)
-Matière grasse proprement dite	34	
-Lécithine (phospholipides)	0,5	
-Partie insaturable (stérol, carotène, tocophérols)	0,5	
Protides :	34	Suspension micellaire de phosphocaséinates de calcium (0,08 à 0,12 μ) Solution colloïdale Solution vraie
-Caséine	27	
-Protéines solubles (albumine, globuline)	5,5	
-Substances azotées non protéiques	1,5	
Sels :	9	Solution ou état colloïdale (sel K, Ca, Na, Mg...)
-Acide citrique	2	
-Acide phosphorique H ₂ PO ₄	2,6	
-Acide chlorhydrique (Hcl)	1,7	
Constituants divers :	Trace	
Vitamines, enzymes, gaz dissous,		
Extrait sec total		
Extrait sec non gras	127	
	92	

I.3. Caractéristiques physico-chimique de lait:

Les propriétés physico-chimiques du lait sont plus ou moins stable, elles dépendent soit de l'ensemble des constitutions comme la densité, soit des substances en solution comme le point de congélation ou encore des concentrations en ions comme le pH, acidité.

Les principales propriétés physico-chimiques utilisées dans l'industrie laitière sont la masse volumique ou la densité, le point de congélation, le point d'ébullition et l'acidité (**LEYOU et BOUGUETAIB, 2014**).

Sur le plan physique, c'est à la fois une solution (lactose, sels minéraux), une suspension (matières azotées) et une émulsion (matières grasses). Son pH est légèrement acide (pH compris entre 6,5 et 6,8 pour le lait de vache et entre 6,2 et 6,82 pour le lait de chèvre). Par contre, il est légèrement basique pour le lait humain (pH compris entre 7 et 7,5), l'acidité du lait augmente avec le temps suite à la transformation du lactose en acide

lactique. Cette acidité permis d'avoir un indicateur du degré de conservation. Pour cela, on utilise le degré Dornic (°D) (BOUADJAIB, 2013).

Tableau 02 : Caractéristiques physicochimiques du lait de vache (FAO, 1998).

Caractéristiques	Valeurs
Densité à 15°C	1.030-1.034
Point de congélation	-0,55°C
pH	6,6 à 6,8
Acidité exprimée en degrés Dornic	16 à 18
Indice de réfraction à 20°C	1,35
Point d'ébullition	100,16°C

I.4. La microflore du lait:

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) (LARPENT, 1997). Le lait dans les cellules du pis est stérile (TOLLE, 1980), mais la glande mammaire, la peau du pis, le matériel de traite, la litière, la qualité de l'air et les pratiques des éleveurs sont des sources de contamination. Le lait cru peut être contaminé par différents microorganismes avant, pendant et après la traite (MENARD et al, 2004).

Les micro-organismes présents dans le lait ont été historiquement utilisés pour la transformation et la conservation du lait. Associée à l'action de la présure, la flore microbienne des laits permettra la production d'une gamme très diversifiée de fromages (LAITHIET, 2011).

I.5. Classification des principaux microorganismes du lait selon leur importance

On répartit les microorganismes du lait cru, selon leur importance, en deux grandes classes : la flore indigène ou originelle et la flore contaminant. La flore contaminant est subdivisée en deux sous-classe : la flore d'altération et la flore pathogène (KABIR, 2015).

I.5.1. La flore originale

Lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, le lait contient essentiellement des mésophiles. Il s'agit de microcoques, mais aussi streptocoques lactiques et lactobacilles. Ces microorganismes, plus ou moins abondants, sont en relation étroite avec l'alimentation et n'ont aucun effet significatif sur la qualité du lait et sur sa production (BOUFELDJA, 2017).

Le lait est un excellent substrat pour la croissance microbienne (BELARBI, 2011). La flore microbienne originelle du lait participe de façon importante à l'établissement des

caractéristiques organoleptiques des fromages frais et ce, indépendamment de la présence des ferments (TCHAMBA, 2007). Cette flore microbienne, dite naturelle ou indigène, joue un rôle important dans la qualité des fromages au lait cru, en particulier sur le plan gustatif. Elle permet de préserver une certaine diversité sensorielle des fromages (BERODIER, 2015).

Tableau 03 : Flore originelle du lait cru (VIGNOLA et al., 2002).

Microorganismes	Pourcentage (%)
<i>Micrococcus</i> sp	30-90
<i>Lactobacillus</i> sp	10-30
<i>Streptococcus</i> ou <i>Lactococcus</i>	<10
Gram négatif	<10

I.5.2. La flore d'altération

Cette flore causera des défauts sensoriels de goût, d'arôme et d'apparence. Elle réduira la durée de conservation des produits laitiers (VIGNOLA et al, 2002).

Trois groupes microbiens sont dominants: les bactéries coliformes (*E. coli* et *Hafnia alvei*), les *Pseudomonas* du groupe fluorescent psychotrope et les streptocoques lactiques (HAMMOU, 2017).

I.5.3. La flore pathogène

Des microorganismes peuvent se trouver dans le lait, lorsqu'il est issu d'un animal malade. Il peut s'agir d'agents de mammites, c'est-à-dire d'infections du pis : comme *Streptococcus pyogenes*, *Corynebacterium pyogenes*, Staphylocoques, etc.... Il peut s'agir aussi de germes d'infection générale comme : *Brucella*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Campylobacter* spp. *Mycobacterium bovis* et *M. tuberculosis*, *Bacillus anthracis*, *Coxiella burnetii*, ou de germes de contamination du lait. Elle présente un danger pour le consommateur c'est le cas de :

Mycobacterium bovis, *M. tuberculosis*, *Bacillus cereus*, et des représentants des genres *Brucella* et *Salmonella* (KHATER et GHEFAR, 2017).



Figure 01: Quelques bactéries pathogènes (PRESCOTT et al, 2003).

I.5.4. La flore psychotrope

Il s'agit essentiellement de : *Acinetobacteres*, *Clostridium*, *Pseudomonas* et *Flavobacterium* qui se développent à une température de 3 à 7 °C. *Listeria monocytogenes* un microorganisme psychrotolérant est capable de se multiplier aussi à une température comprise entre 0 et 10 °C (KHATER et GHEFAR, 2017).

I.6. Sources de contamination de lait

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 le consommateur 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 (GUIRAUD, 1998).

Tableau 04 : Les différentes sources de contamination du lait cru (HASSAN et al, 2002).

Sources	Genres
Personnel	Coliformes, <i>Salmonella</i> , <i>Entérocooccus</i> , <i>Staphylococcus</i>
Air	<i>Streptococcus</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Corynebactérium</i> , <i>Bacillus</i> Levure et Moisissures.
Intérieur du pis	<i>Streptococcus</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Corynebactérium</i>
Extérieur du pis	<i>Micrococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Entérocooccus</i> , <i>Bacillus</i>
Fèces	<i>Eschérichia</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Listéria</i> , <i>Mycobactérium</i> <i>Salmonella</i>
Appareil de traite	<i>Micrococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Bacillus</i> , Coliformes <i>Clostridium</i>
Litières	<i>Bacillus</i> , <i>Klebsiella</i>
Sol	<i>Clostridium</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> <i>Mycobactérium</i>
Alimentation	Levure et Moisissures
Eau	<i>Clostridium</i> , <i>Listéria</i> , <i>Bacillus</i> , Bactérie lactiques Coliformes, <i>Pseudomonas</i> , <i>Corynebactérium</i> , <i>Alcaligenes</i>

I.7. Les enzymes coagulant le lait

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

I.7.1. Les enzymes d'origines animales

Les enzymes coagulantes d'origine animale sont des protéases gastriques, les plus employés sont la présure. La présure de veau est l'agent coagulant traditionnellement utilisé pour la coagulation du lait en vue de la fabrication de la majorité des fromages (ALAIS, 1984 ; WIGLEY, 1996).

De petites quantités sont produites à partir de l'estomac de chevreau et d'agneau. Selon la (FIL), la dénomination «présure» est donnée à l'extrait coagulant provenant de caillettes de jeunes ruminants abattus avant sevrage. Elle contient en réalité deux fractions actives, l'une, majeure, constituée par la chymosine, l'autre, mineure, par la pepsine. Au pH du lait (6,2-6,6), la chymosine représente plus de 80 % de l'activité coagulante, la sécrétion de chymosine s'arrête au moment du sevrage lorsque des aliments solides sont présents dans la ration alimentaire, la production de pepsine s'accroît alors très fortement et devient dominante (BELBELDI, 2013).



Figure 02: caillette d'agneau (BOUFELDJA, 2017)

I.7.2. Les enzymes d'origine végétales:

Il existe plusieurs préparations coagulantes provenant du règne végétal. Elles sont extraites par macération de divers organes de plantes supérieures. Parmi les espèces connues on peut citer le gaillet, l'artichaut, le chardon qui ont été utilisés dans des fabrications de fromages de fermiers, ainsi que le latex du figuier. D'une manière générale, ces diverses préparations végétales ont donné des résultats assez décevants en fromagerie car elles possèdent le plus souvent une activité protéolytique très élevée qui induit des pertes dans le rendement fromager et le développement de goût amer au cours de l'affinage (RAMET, 1997).

Malgré les inconvénients évoqués précédemment, ces dernières, sont plus stables à la chaleur par rapport aux protéases d'origine microbienne et animale (TALANTIKITE, 2015).

I.7.3. Les enzymes d'origine microbiennes:

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 (NOOR et al, 1983).

Ces coagulants peuvent être facilement produits par fermentation. Toutefois, ils montrent une forte activité protéolytique pendant la fabrication du fromage, ce qui peut entraîner une perte de protéine, un rendement plus faible, et la génération de saveur désagréable (HARBOE et al, 2010). On distingue deux catégories de protéases microbiennes : les succédanés d'origine bactérienne et les succédanés d'origine fongique.

Les enzymes d'origine bactérienne, ce sont surtout les souches du genre *Bacillus*, leur aptitude à la coagulation est meilleure que celle d'origine végétale et moins bonne que celle des enzymes produites par les moisissures. Les caillés obtenus manquent de cohésion du fait d'une trop forte activité protéolytique par comparaison à la présure animale (ALAIS, 1984).

Les enzymes d'origine fongique, contrairement à celles d'origine bactérienne, ont donné des résultats meilleurs, souvent comparables à ceux obtenus avec la présure, les préparations commerciales employées actuellement proviennent de trois genres de moisissures, *Cryphonectria parasitica*, *Rhizomucor pusillus* et *Rhizomucor Miehei* (ROA et al, 1999).

Tableau 05 : Origine des différentes enzymes utilisées pour coaguler le lait (MIETTON, 1991).

Nom scientifique	Nom français	Nom algérien
<i>Cynarascolymus L.</i>	Artichaut	Karnoune
<i>Cynaracardunculus L.</i>	Cardon	Thaga/ khorchef
<i>Seneciojacobaea L.</i>	Séneçon	Debouz-el-arabe
<i>Ficus carica L.</i>	Figuier	Kerma

CHAPITRE 02
PRODUITS LAITIERS
TRADITIONNELS

I. Les produits laitiers en Algérie

L'Algérie a une tradition bien établie sur les produits laitiers transmis d'une génération à une autre, qui a un aspect important de la culture Algérienne. Le lait, abondant durant certains moments de l'année, est facilement périssable et difficile à conserver, surtout dans les zones à climat très chaud dans n'importe quelle culture, il a été toujours traité pour augmenter la durabilité et la valeur nutritive pour une consommation domestique et au même temps de permettre la commercialisation du surplus (**Benchafir 2001**). Les femmes algériennes, comme chez toutes les cultures pastorales, s'occupent des travaux ménagers, en plus des activités agricoles et pastorales qui se déroulent à l'intérieur et à l'extérieur de l'habitat rural, comme la collecte et la transformation du lait (**Medouni et al, 2005**) Les fromages, fruits de la culture pastorale, sont l'objet d'une découverte pendant ces dernières années, par les consommateurs. La recherche des saveurs moins standardisées, plus riches et variées contribue à la redécouverte des produits traditionnels, les résultats de technologies basées sur l'expérience du fromage et les conditions environnementales.

II. Fromage traditionnel (Jben)

Selon la norme du Codex alimentarius et la norme internationale FAO/OMS, le fromage frais ou non affiné est un fromage qui est prêt à la consommation peu de temps après fabrication.

Aux termes de la réglementation française, la dénomination « fromage » est réservée à un produit fermenté ou non, obtenu par coagulation du lait, de la crème ou leur mélange, suivie d'égouttage (**LUQUET et CORRIEU, 2005**).

II.1. Définition

Le Jben est le fromage traditionnel frais le plus connu et consommé depuis fort longtemps aussi bien en milieu rural qu'en milieu urbain, au cours des années 80, la consommation des produits laitiers traditionnels en général, et du « jben » en particulier, c'est accrue suite à la présence dans les villes d'un grand nombre de laiteries traditionnelles qui préparent le « jben » à partir du lait cru selon des procédures souvent artisanales (**ABDELLAZIZ et ATT KACI, 1992**).

Traditionnellement, il est fabriqué avec du lait cru de brebis de chèvre ou de vache acidifié spontanément et coagulé par des enzymes coagulantes d'origine végétale. Il est fabriqué aussi par des enzymes coagulants d'origine animale ou d'origine microbienne (**NOUANI, 2009**).

II.2. Les caractéristiques physiques et chimiques du Jben

Le fromage frais « Jben » ne présente pas des caractéristiques définies à cause des méthodes artisanales utilisées pour sa préparation reposant essentiellement sur les connaissances acquises à partir d'une longue expérience (**BOUADJAIB, 2013**).

Les caractéristiques physico-chimiques, les arômes et les propriétés organoleptiques du fromage dépendent de celles du lait cru qui à son tour dépend de la race animale et leur type d'alimentation (**POSNANSKI et al, 2004**).

Généralement, le PH (<4,2) et l'acidité titrable (>0,9%) sont les paramètres les moins variables du « Jben », ce qui témoigne de la présence d'une fermentation lactique active (ABID, 2015).

Les valeurs de composition physico-chimique du Jben, ne sont que des moyennes. En réalité, il existe des variations, significativement importantes de composition, d'un producteur à l'autre. Ces variations sont souvent inhérentes aux procédures différentes de préparation du Jben (DLOUHRI et MADANI, 2015).

Tableau 6 : Composition de Jben (Abdelaziz et Ait Kaci, 1992)

Composition de Jben	Eau	Matière grasse	Protéine	Calcium
Les valeurs	65,27	18,72	13,73	0,14

II.3. Microflore du Jben :

Le Jben comme tout autre produit fermenté est caractérisé par sa grande richesse en micro-organismes. La flore mésophile aérobie totale est importante dans ce produit (El Marrakchi et Hamama, 1996).

II.3.1. Flore lactique

Les bactéries lactiques sont définies des cellules vivantes, procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes. Elles présentent un groupe hétérogène de micro-organismes produisant de l'acide lactique comme produit principal du métabolisme (MENASRIA, 2011). Ce groupe de bactéries regroupe des bacilles et des coques à Gram positif, non sporulés, catalase négative (DJEDDI et CHABANE, 2014).

Elles sont retrouvées dans différentes niches écologiques comme les produits laitiers, la viande, les végétaux, les céréales et font partie de la flore intestinale et vaginale humaine ou animale (KOUAM, 2013).

La flore lactique est utilisée en industrie laitière sous forme de ferment ou levain pour la fabrication des produits laitiers fermentés. L'intérêt technologique des bactéries lactiques réside dans la production de l'acide lactique par la fermentation du lactose. La production d'acide lactique baisse le PH et provoque une déstabilisation progressive de la dispersion micellaire, ce qui rend le lait de moins stable aux traitements thermiques et peut entraîner sa coagulation (DJEDDI et CHABANE, 2014).

Lors de la fermentation, en plus de l'acide lactique, certaines bactéries lactiques produisent du gaz carbonique ainsi que divers composés qui contribuent à l'arôme des produits laitiers. Par leur production d'enzymes protéolytiques, les bactéries lactiques contribuent à l'affinage des fromages (BALLARDA, 2003).

a. Caractéristiques des principaux genres des bactéries lactiques

- **Lactobacilles**

Ils sont parmi les genres les plus utilisés en agroalimentaire et la nutrition humaine, ces bactéries sont de formes bacillaires ou cocobacillaires et ont tendance à former des chainettes. Ce sont des bactéries anaérobies facultatives ou parfois micro aérophiles, elles fermentent le sucre donnant de l'acide lactique comme seul produit de fermentation (OUCHERIF et SELLAMA, 2015).

Les lactobacilles se répartissent en trois groupes selon leur profil fermentaire :

-Homofermentaires stricts, hétérofermentaires facultatifs et hétérofermentaires stricts (*Lb. brevis*, *Lb. kefir* et *Lb. sanfransisco*) (TORMO, 2010).

-Les homofermentaires stricts : produisant exclusivement de l'acide lactique à partir du glucose. Ce groupe est constitué d'environ 25 espèce, la plupart thermophiles dont dot *Lb. delbrueckii*, *Lb. helveticus* (BOUADJAIB, 2013).

-Les hétérofermentaires facultatifs : sont capable d'utiliser la voie hétérofermentaire dans certaines conditions comme une concentration en glucose limitant. Il est constitué d'une vingtaine d'espèces dont *Lb. casei*, *Lb. Curvatus*, *Lb. sakeet* *Lb. plantarum*, majoritairement mésophiles (REZGUI et ZOGHLAMI, 2014).

-Les hétérofermentaires stricts : ils fermentent les hexoses en acide lactique, en acide acétique ou en éthanol et CO₂. Ils dégradent les pentoses en acide acétique et en acide lactique. Ces bactéries du CO₂ lors de la fermentation du glucose et du gluconate (STRETT, 2008).

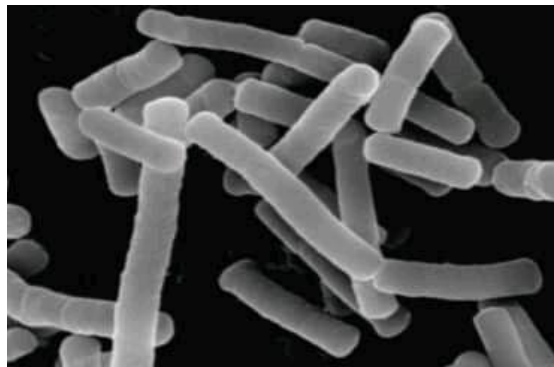


Figure 03 : le genre *lactobacillus* (DJOHRI et MADANI, 2015)

- **Lactococcus**

Ce sont des microorganismes mésophile, à Gram positif, sans activité catalase, non mobiles et se présentant sous forme de coque disposés en paires ou en chaînette. Leur métabolisme est homofermentaire, ils sont largement présents dans le lait et les produits laitiers, ce sont des bactéries anaérobies facultatives homo-fermentaires ne produisant que de l'acide lactique L(+), les espèces les plus importants sont : *Lactococcus lactus* avec la sous espèce *lactococcus lactis subplactisbiovardiacety lactiset*

l'especelactococcuscremoris(BEKOUCHE, 2006).



Figure 04: le genre *lactococcus*(KHATER et GHEFAR, 2017)

- **Streptococcus**

Les genres *streptococcus* comprend essentiellement des espèces d'origine humaine ou animale dont certaines sont pathogènes comme *S.pyogenes* et *S.agalactine*, d'autre sont impliquées dans la formation de la plaque dentaire (*S.mutans*), ces espèces étant rarement rencontrées dans les aliments. *Streptococcus thermophilus* est la seule espèce de streptocoque qui soit utilisé en technologie alimentaire, *Streptococcus thermophilus* se différencié par son habitat (lait et les produits laitiers) et son caractère non pathogène (HAMIROUNE et al, 2014).

- **Leuconostocs**

Ce sont des coques lenticulaires en paires ou en chaînettes mésophiles, qui possèdent un caractère hétérofermentaire marqué, avec production d'acide lactique, de CO₂ et l'éthanol.

Elles sont classées en quatre espèce : *Ln mesenteroides*, *Ln paramesenteroides*, *Ln lactis* et *Ln oenos*, (GONZALEZ et al, 2007).

Elles sont responsables de contaminations et d'altérations de divers produits tels que les boissons acides et sucrés. Elles sont utiles dans certains fromages car elles facilitent leur ouverture par la production de CO₂(KIHHEL, 1996).

- **Entérocooccus**

Ce sont regroupés les streptocoques fécaux, qui sont des commensaux de l'intestin. Les espèces retrouvées dans l'alimentation sont essentiellement *Entérocooccus faecalis* et les espèces proches. Ils ont un métabolisme homofermentaire (ZIANI et GATTOUT, 2008).

Les entérocoques joueraient un rôle dans le développement des caractéristiques sensorielles des fromages. Certaines souches sont d'ailleurs utilisées comme levains lactiques (TORMO, 2010).

II.3.2. Flore d'altération

Du fait même de leur composition et des conditions de production, les produits laitiers peuvent être contaminés par des microorganismes qui en multipliant dans le milieu. La flore d'altération causera des défauts sensoriels de goût, d'arôme, d'apparence ou de texture et réduira la vie du produit laitier (ESSALHI, 2002).

Cette flore regroupe les bactéries thermotolérantes, les coliformes, les psychrotolérantes, les levures et moisissures (ABDESSALAM, 1984).

- **Les coliformes fécaux**

Appelant aussi des entérobactéries fermentant le lactose avec production de gaz à 30°C. Cependant, lorsqu'ils sont en nombre très élevé, les coliformes peuvent provoquer des intoxications alimentaires. Le dénombrement des coliformes a longtemps été considéré comme un indice de contamination fécale. Comme les entérobactéries totales, ils constituent un bon indicateur de qualité hygiénique (GUIRAUD, 2003).

- **Levures et moisissures**

Les levures et moisissures sont des cellules eucaryotes rattachées au règne végétal par leur structure cellulaire, elles peuvent être retrouvées aussi bien dans le lait et les produits laitiers (ABDESSALAM, 1984).

Les levures sont utiles en industrie laitière car elles peuvent servir comme agents d'aromatization. Elles entraînent des altérations rendant le produit final (odeurs désagréable, gonflement des produits ou de leur emballage...).

Les moisissures sont des champignons microscopiques, se développent en surface ou dans les parties internes aérées. Les aliments sont des substrats très favorables à leur développement, ces germes peuvent y causer des dégradations par défaut d'apparence, mauvais goût, ou plus gravement production de mycotoxines (CAGHANIER, 1998).

II.3.3. Flore pathogène :

La contamination du lait et des produits laitiers par les germes pathogènes peut être d'origine endogène, et elle fait, alors, suite à une excrétion mammaire de l'animal malade; elle peut aussi être d'origine exogène, il s'agit alors d'un contact direct avec des troupeaux infectés

ou d'un apport de l'environnement (eaux) ou bien liées à l'homme (BRISABOI et al, 1997). Parmi ces germes:

- **Bactéries infectieuses**

Elles doivent être souvent vivantes dans l'aliment lors de sa consommation pour agir. Une fois ingérées, elles dérèglent le système digestif. Elles entraînent de divers symptômes connus, tels que la diarrhée, les vomissements, les maux de tête. Les principaux microorganismes infectieux : *Listeria*, *Salmonnelles*.

- **Bactéries toxigènes**

Qui produisent une toxine dans l'aliment qui est responsable de l'intoxication du consommateur. Les principaux micro-organismes toxigènes : *Staphylocoques*, *Les clostridium*s.

II.4. Méthode de fabrication du jben

II.4.1. Technologie traditionnel

Le Jben est le produit obtenu après caillage du lait cru par voie de fermentation végétale par l'utilisation de certain plante, comme les grains de l'artichaut, celles du cardon, ou des grains de citrouille ou du lait de figuier, ce qui distingue ce fromage des autre fromages de fabrication traditionnelle, dont la technique de fermentation utilisée recourt à la présure animale (caillette de cabri ou de veau) (DJOUHRI et MADANI, 2015). Le lait cru de brebis ou de chèvre est mise dans une outre de peau de chèvre ou dans une jarre en terre cuite, pendant une durée de 24 à 48h, en fonction de la saison, à température ambiante. Après coagulation du lait, le caillé est collecté et enroulé dans un tissu propre puis pressé pour égouttage. Une fois égoutté, le caillé est découpé en petits morceau irréguliers et exposé au soleil pour séchage complet (NAHIDA, 2013).



Figure 05 : Etapes de fabrication du Jben (ZIANI et GATTOUT, 2008).

II.4.2. Technologie semi-industrielle

Certaines unités fromagères ont introduit des améliorations dans la préparation du jben pour augmenter les quantités produites et de réduire les durées de fabrication. Les améliorations apportées sont variables d'un producteur à un autre. Dans la plupart de ces ateliers de fabrication du fromage, il y a emploi de plus en plus de matériel et ustensiles laitiers modernes en matières plastiques ou en aluminium (cuve de coagulation, table spéciale d'égouttage, moules de différents tailles, système de chauffage du lait, incubateurs, réfrigérateurs,...). Le produit fini est conditionné le plus souvent dans un emballage en papier avant sa commercialisation (MECHAI, 2009).

La fabrication d'un fromage frais, selon les méthodes traditionnelles comprend trois étapes successives : la maturation, la coagulation et l'égouttage (BOUADJAIB, 2013).

- **La maturation**

C'est l'incubation du lait cru à température ambiante pendant un temps variable de façon à favoriser la multiplication d'une flore lactique qui va jouer un rôle important dans l'acidification du lait. Cette maturation peut être spontanée ou provoquée par adjonction de levains. Le recours à des levains artificiels du commerce n'est cependant pas toujours une nécessité absolue, car le fermier producteur de lait a lui-même la possibilité de cultiver un levain naturel à partir de la flore contenue dans son propre lait (BOUADJAIB, 2013).

- **La coagulation**

En technologie fromagère, on distingue donc deux types de coagulation : la coagulation lactique ou coagulation acide (voie fermentaire), et une coagulation présure (voie enzymatique). Ces deux modes ont une action simultanée sur le lait avec cependant une prédominance plus ou moins marquée de l'un ou l'autre selon que le fromager souhaite obtenir une pâte à caractère plus présure ou à caractère plus lactique (BENKERROUM et TAMIME, 2004).

1. La coagulation par présure

Diverses enzymes protéolytiques ont la propriété de coaguler le lait, elles sont soit d'origine animale soit d'origine végétale (ficine, broméline), soit d'origine microbienne (enzymes de certaines moisissures ou bactéries). Les enzymes utilisées en fromagerie sont la présure, la pepsine et celle d'origine fongique (FAO, 1995).

La présure est utilisée surtout pour faciliter l'égouttage du fromage, on utilise des faibles doses de présure (1,5 à 5 mg par 100 l du lait) à température 15 à 20 °C. Le caillé se forme pendant 30-60 mn, la fin de la coagulation est une phase très courte qu'il faut déterminer d'autant plus vite que la fabrication à un caractère présure, le temps de prise est le temps au cours duquel le lait perd sa fluidité et gagne sa viscosité (MAJDI, 2009).

2. Coagulation par acidification lactique

Sous l'action des bactéries lactiques, le lait s'acidifie progressivement, l'acidification du lait peut conduire suivant les conditions, soit de caséine, soit à la formation d'un gel. Le lait ne coagule que le pH atteint des valeurs inférieures à 4.6 (**FREDOT, 2006**).

- **L'égouttage**

Un des buts essentiels de cette opération est de régler la teneur en eau du fromage. Il permet l'élimination de la plus grande partie du sérum qui imprègne le coagulum. L'égouttage est amorcé dans des moules qui confèrent au fromage sa forme. La nature du gel influe sur la conduite de l'égouttage. Un gel lactique subit un égouttage spontané et le caillé a par conséquent une forte humidité. Cependant, un gel présure est un gel compact, solide ou l'égouttage ne peut avoir lieu qu'après certaines interventions telles des actions mécaniques de pression. Suivant le goût du fromager, le salage peut être fait. C'est une opération importante dans la fabrication des fromages. Elle a des effets multiples : elle améliore l'égouttage en le complétant, elle oriente et sélectionne le développement microbien et relève la saveur de la pâte (**BENKERROUM et TAMIME 2004**).

Ce type de fromage est très apprécié par les consommateurs et pourraient être promus à l'échelle nationale et internationale, si elle sera fabriquée sur une grande échelle en respectant leurs caractéristiques organoleptiques, car il a un goût salé, légèrement acide et agréables propriétés organoleptiques (**MENNANE et al, 2007**).

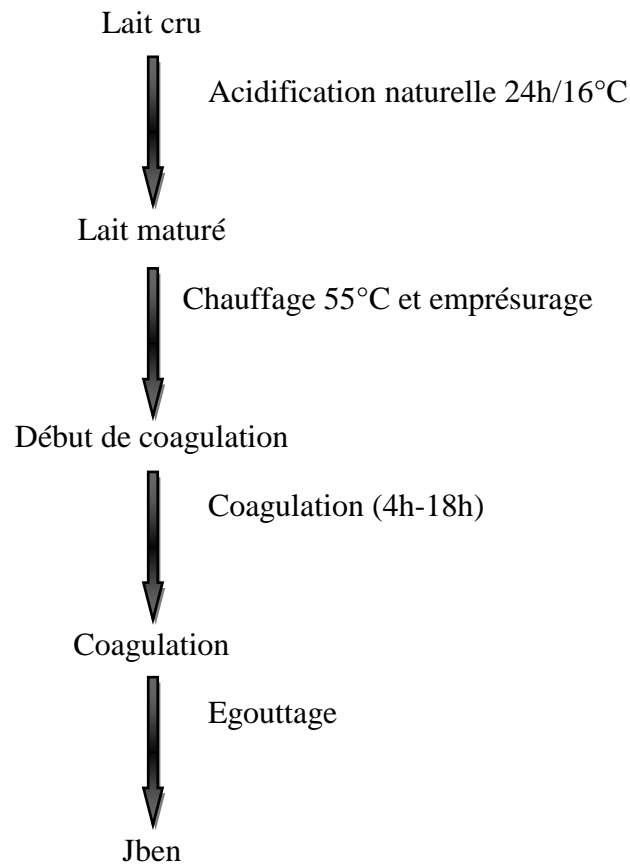


Figure 06 : Diagramme de fabrication artisanale des Jbens étudiés

III. Autre produits traditionnels en Algériens :

- **Raïb**

Le Raïb fait partie des produits laitiers fermentés populaires en Algérie (lait écrémé fermenté). Il a une très ancienne tradition en Algérie, il est fabriqué à partir du lait cru de vache ou de chèvre. La fermentation du lait est spontanée, le produit a un aspect de yaourt (Mechai et Kirane, 2008).

- **L'ben**

Le Lbenest fabriqué à partir du Rayeb qui est barattée 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)

- **Smen**

Le Smen c'est la Zebda ou Dhenqui est lavé, salé et malaxé , puis conditionné dans des pots en terre cuite fermés hermétiquement et entreposés dans un endroit frais et obscur à température ambiante (**Sakili et Issoual, 2003 ; Luquet et Corrieu, 2006**).

MATÉRIELS ET MÉTHODES



I. Matériels

I.1. Appareillage

- Autoclave
- Bain marie
- Balance
- Bec bunsen
- Etuve
- Vortex
- Réfrigérateur

I.2. Verreries et petit matériel

- Béchers
- Boîtes pétri
- Flacons
- Spatule
- Tubes à essai
- Pipettes graduées
- Pipettes pasteur
- Micropipettes

I.3. Milieu de culture

Les milieux utilisés sont :

- Milieu Plate Counte Agar
- Milieu Oxytetracycline Glucose Agar
- Milieu Man Rogosa Sharp
- Milieu Lactose d'isolement des lactocoques
- Gélose Lactosée Biliée au Cristal Violet et au Rouge Neutre

II. Méthodes

II.1. Objectif de l'étude

L'objectif tracé dans cette étude consiste à évaluer la diversité microbienne du fromage Jben de la région de Macheria (Wilaya de Naama). D'autre but est d'identifier les principaux germes impliqués dans la fabrication et la qualité du fromage traditionnel frais (Jben). Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie de la faculté SNV Sidi Bel abbes.

II.2. Echantillonnage

II.2.1. Prélèvement

Pour la réalisation de notre étude, un échantillon de Jben est prélevé de la région de Mechria, wilaya de Naama (**Figure 7**). Le produit fromage traditionnel « Jben » est fabriqué traditionnellement et commercialisé dans cette région. L'échantillon a été prélevé dans un bocal stéril , puis transporté dans une glacière, jusqu'au laboratoire pour être analysé, il a été ensuite mis au réfrigérateur pour effectuer les différentes analyses microbiologiques.



Figure 07: produits laitier traditionnel (JBEN)

II.2.2. Répartition géographique

Mechria est une commune de la wilaya de Naama, situé dans le nord- ouest algérien. La commune couvre une superficie de 736 ,25Km², son territoire se situé au Nord-est de wilaya se Naama, à 101 Km d'Ain sefra, 260 Km de Tlemcen, 229Km d'Oran, et à 154 Km de Saida. Elle est dominée par la Djebel Antar qui culmine à 1721m. La région de Naama est connu par la fabrication et la commercialisation des fromages frais traditionnelle frais vue leur spécificité géographique.



Figure 08: carte géographique de la région de Mechria

II.3. Analyses microbiologique

II.3.1.Préparation de la solution mère

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

- Dans un récipient stérile on pèse 10 g de notre échantillon auquel on ajoute 90ml d'eau physiologique, agiter pour homogénéiser l'ensemble des suspensions obtenues est dite suspension mère 10^{-1} .
- Ensuite transférer aseptiquement 1ml de la suspension mère et l'introduire dans un tube stérile contenant 9ml de diluant, c'est la dilution 10^{-2} .
- A l'aide d'une autre pipette stérile, introduire 1ml de dilution 10^{-1} obtenu dans un tube stérile contenant 9ml de diluant, on obtient la dilution 10^{-3} .
- De la même façon les dilutions 10^{-4} , 10^{-5} sont préparées.

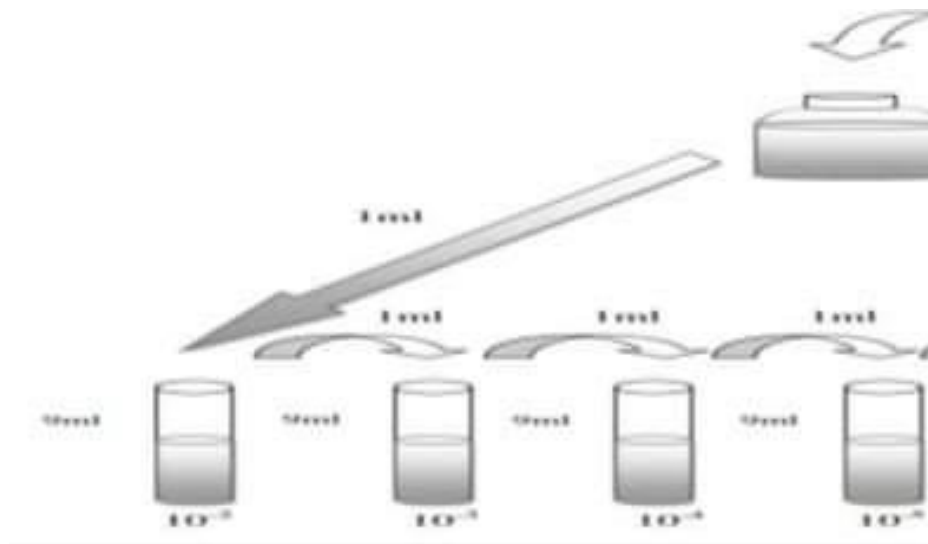


Figure 09: Préparation des déluions décimales à partir de la solution mère (SMAILI et RAHMOUNI, 2015)

- Il est recommandé d'étiqueter la boîte de pétri avec le numéro d'échantillon, la dilution, la date et toute autre information utile.
- Il est recommandé de sélectionner les dilutions pour garantir que les boîtes contiennent le nombre approprié des colonies.
- Multiplier toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution.

II.3.2. Dénombrement des principaux groupes microbiens :

Le tableau suivant résumé les principaux germes recherché avec leurs conditions d'incubation

Tableau 07:Recherche des principaux germes

Germes recherché	Milieu de culture utilisé	Condition d'incubation	
		température	temps
Flore mésophile aérobie totale	Plate Count Agar	30C°	72h
Levures et moisissures	Oxytétracycline Glucose Agar	25C°	5jrs
lactobacilles	Man Rogosa Sharp	37C°	24h
lactocoques	Milieu lactose d'isolement des lactocoques	37C°	24h
Les coliformes	Violet Red Bile lactose Agar	37C°	24h
		44C°	

II.3.2.1. Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (FMAT)

Elle représente une partie de la flore des produits et donne une bonne image du niveau de contamination (**Alain Brange et al, 2007**).

Principe

- Le dénombrement de la flore aérobie mésophile est généralement réaliser en milieu solide Plate Counte 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 dilutionsdécimales 10^{-3} , 10^{-4} .dans les boites pré-numéroté.

- Compléter par la suite environ 12 a 15 ml de gélose PCA.

- Homogénéiser le contenu en effectue des mouvements circulaires en forme de 8 pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose et laisser solidifier.

- Incuber à 30C° pendant 72h.

Lecture

-Après 72h, la lecture se fait en comptant les colonies de couleur apparaissant se fourme lenticulaire.

II.3.2.2. Dénombrement des levures et moisissures

Les levures et moisissures sont des contaminants et agent de dégradation des produits alimentaires pour point de vue qualitatif. Les levures sont des champignons unicellulaires alors que les moisissures sont des champignons filamenteux unis ou multicellulaires (Guiraud, 2003).

Principe

- Le dénombrement se fait sur milieu OGA(Oxytétracycline Glucose Agar), qui est un milieu de culture acide favorisant la culture et l'isolement des champignons et des moisissures.

Mode opératoire (JORA n° 36 :2007)

- Dans la zone stérile transférer à l'aide d'une pipette stérile, dans chaque boîte, 1ml de dilution 10^{-2} , 10^{-3} (en changeant de pipette de chaque dilution).
- Couler dans chaque boîte de pétri environ 15ml de milieu OGA.
- 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 25C° 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.

II.3.2.3. Dénombrement des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont utilisées en alimentation humaine et sont à la base de la fabrication des produits laitiers.

Le dénombrement de ces bactéries se révéle comme un paramètre important à étudier.

a - Les lactobacilles**Principe**

- Le dénombrement se fait sur milieu MRS (Man Rogosa Sharp), qui est un milieu favorisant la culture et l'isolement des lactobacilles.

Mode opératoire

- Dans la zone stérile transférer à l'aide d'une pipette stérile, dans chaque boîte de pétri 1ml - de chaque dilution 10^{-1} , 10^{-2} .
- Couler dans chaque boîte environ 15ml de milieu MRS.
- Homogénéiser le contenu en effectuant des mouvements circulaires en forme 8 pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose et laisser solidifier.
- Incubation à 37°C pendant 24 h-48h.

Lecture

- Les colonies des lactobacilles sont une forme ronde semi-bombée blanche.

b- les lactocoques

Sont recherchés sur milieu M17 pour le dénombrement et l'isolement.

Mode opératoire

- L'ensemencement est effectué sur milieu coulé M17, porter aseptiquement 0,1ml de chaque dilution 10^{-1} , 10^{-2} au milieu de la gélose solidifier.
- Etaler en surface grâce à un râteau stérile sans toucher les parois de la boîte.
- Incubation à 37°C pendant 24h.

Lecture

- Les colonies des lactocoques ont une forme irrégulière marron.

II.3.2.4. Dénombrement des coliformes totaux et des coliformes fécaux

Les coliformes fécaux ou thermotolérants sont un sous-groupe des coliformes totaux capable de fermenter le lactose à une température 44°C .

Principe

- Le milieu VRBL (Milieu lactoséebilié au cristal violet et au rouge neutre), est un milieu de culture gélosé pour les coliformes totaux et thermotolérants.

a - Les coliformes totaux**Mode opératoire**

- 1ml de la dilution est inoculé en profondeur. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h.

b - Les coliformes fécaux

Mode opératoire

- L'ensemencement est effectué sur milieu coulé de VRBL, porter aseptiquement 0,1ml de chaque dilution 10^{-1} , 10^{-2} au milieu de la gélose solidifier.
- Etaler en surface grâce à un râteau stérile.
- Incubation à 44°C pendant 24h.

Lecture

- Les coliformes forment des colonies roses / rouges ayant un diamètre supérieur ou égal à 0,1mm.

II.3.3. Expression des résultats

On retient des boites contenant de 15 à 300 colonies Le dénombrement des colonies est réalisé selon la formule suivante : $N = \sum c / (n_1 + 0,1n_2) d$

$\sum c$: la somme des colonies de toutes les boites.

d : Le facteur de dilution à partir duquel les premiers comptage ont été obtenus.

n_1 : nombre des boites positives de la première dilution.

n_2 : nombre des boites positives de la deuxième dilution.¹²

retenir comme résultat le nombre de microorganismes par millilitre (produits liquides) ou par gramme (autres produits), exprimé par un nombre compris entre 1,0,et 9, multiplié par la puissance appropriée de 10.

II.3.4. Critères morphologiques et biochimiques

- **Examen macroscopique**

Est le premier examen effectué après l'incubation, l'aspect des colonies dépend du milieu utilisé et la durée de la température de l'incubation.

La colonie peut apparaitre à la surface du milieu de culture pour les germes aérobies, ou être en profondeur pour les germes anaérobies.

- **Examen microscopique :**

Coloration de Gram :

Ce test permet de mettre en évidence la structure de la paroi bactérienne : chez les bactéries à Gram positif : il y a de nombreuses couches de peptidoglycane qui représentent jusqu'à 90 % des constituants de la paroi bactérienne. Celle-ci contient aussi un feutrage (10 à 50 % du poids sec de la paroi).

Chez les bactéries à Gram négatif : il n'y a qu'une seule ou au plus deux couches de peptidoglycane qui ne représente que 5 à 20 % des constituants de la paroi bactérienne. Mais 3 polymères situés en dehors du peptidoglycane viennent compléter la paroi : des lipoprotéines, une « membrane externe » qui contient du lipopolysaccharide.

Principe :

- Sur une lame de verre, fixer un frotti bactérien par la chaleur du bec bunsen.
- Colorer le frotti au violet de gentiane pendant 1min en maintenant la lame inclinée durant toutes les étapes de la coloration.
- Fixer la 1ere coloration en ajoutant du Lugol pendant 30 secondes.
- Décolorer le frotti avec de l'éthanol 95% jusqu'à disparition du colorant.
- Rincer la lame à l'eau courante.

A ce stade les cellules gram (-) seront incolores, les cellules gram (+) violettes.

- Colorer le frotti avec une solution de Fuchsine pendant 30 secondes, puis rincer à l'eau courante et sécher avant de l'examiner sous objectif avec l'huile à immersion (grossissement 100) (Singleton, 1999).

II.3.5 Enrichissement et isolement

• Enrichissement

Est effectuée dans le bouillon nutritif et le bouillon MRS, il est fait à partir de milieu gélosé. Les tubes ensemencés sont mélangés puis incubés.

• Isolement

Technique

Est réalisé en prélevant une goutte du milieu d'ensemencement avec l'anse de platine que l'on ensemence en stries sur milieu sélectif. La culture est incubée à 37C° pendant 24h.

Isolement de souches recherchées

A partir des boîtes contenant de 25 à 250 colonies de MRS, M17, VRBL, PCA 4 à 6 d'entre elles d'aspects différents sont prises au hasard et mises dans les bouillons MRS, et bouillon nutritif par la suite incubés pendant 24h.

Si un trouble bactérien qui apparaît, cela signifie l'accroissement des bactéries et que ces cultures ont subi des repiquages successifs de milieux solides.

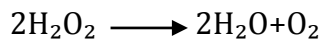
II.3.5.1. Identification des isolats :

a - Critères morphologique

Faire l'étude macroscopique et la coloration de Gram suivi par l'observation microscopique.

b - Critères biochimiques :**Test catalase**

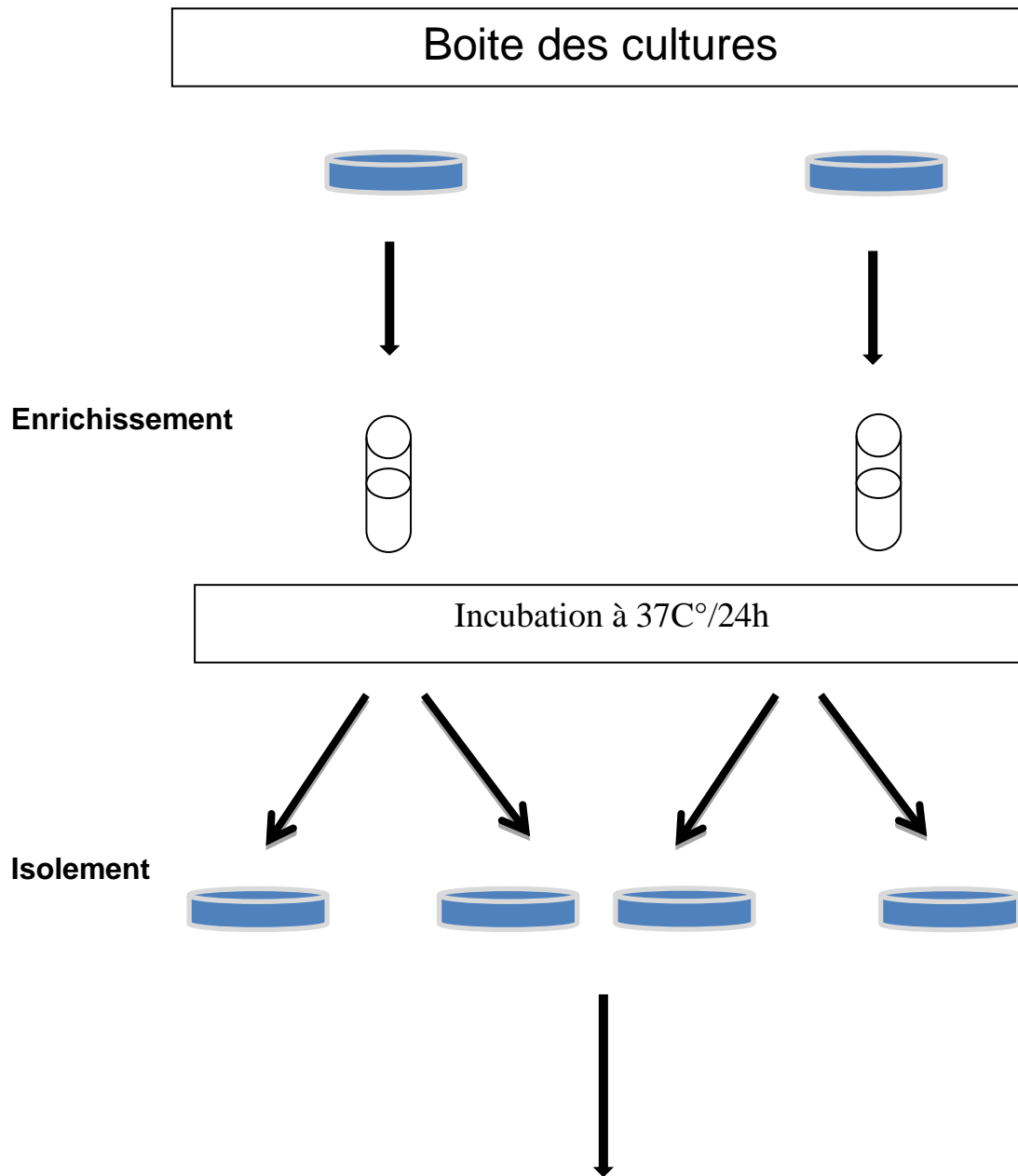
La catalase est une enzyme capable de dégrader le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) produit par certaines bactéries pendant leur respiration aérobie. La mise en évidence de cette enzyme est réalisée par l'ajout d'une goutte d'eau oxygénée sur une colonie bactérienne. La réaction positive se traduit par dégagement de gaz qui indique la présence d'enzyme catalase.



La présence de *staphylococcus aureus* est confirmée par les tests de la catalase et de la coagulase :

Tableau 08: Milieu d'enrichissement et l'isolement des bactéries isolés

Milieus liquides d'enrichissement	Bactéries	Milieu d'isolement	Température d'incubation	durée d'incubation
Bouillon nutritive + bouillon MRS ou BHIB	Flore mésophile aérobie total	PCA	30C°	24h
	Coliformes totaux et fécaux	VRBL	37C°	24h
Bouillon nutritif	lactobacilles	MRS	37C°	24h
Bouillon MRS	lactocoques	M17ou MRS	37C°	24h



Identification phénotypique et biochimique

Figure 10: protocole d'isolement de souches recherchées

RÉSULTATS ET DISCUSSION



Résultats et discussions

I. Analyses microbiologiques

I.1. Résultats de dénombrement et recherche des principaux groupes microbienne

I.1.1. Flore mésophile aérobie totale

La flore mésophile aérobie totale d'un échantillon de « Jben » cultivée sur le milieu PCA a relevé une valeur moyenne de $2,40 \cdot 10^6$ UFC/g.

Cette valeur est élevée par rapport au fromage montasio (Italie) ayant une FMAT de $5,3 \cdot 10^5$ UFC/G (Marino et al.2003), et inférieure à celles de Jben (Maroc) contenant une charge $1,14 \cdot 10^7$ UFC/g (Mohamed et al, 2011) et fromage bouhezza qui présente une charge de $1,2 \cdot 10^8$ UFC/G d'après le travail d'Aissaoui Zitoun et al. (2011).A ce jour la norme nationale a été publiée et qui donne le taux de FMAT pour les fromages traditionnels .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'hygiène. En effet le matériel de la traite, la laitière, la qualité de l'air et les pratiques des éleveurs sont des sources de contamination (Amhour et al, 2010).



Figure 11: Aspect de FMAT sur milieu PCA

I.1.2. Résultat de dénombrement des levures et moisissures

Les levures sont retrouvées en quantité plus importante par rapport aux moisissures. Elles interviennent dans la désacidification de la pâte en début d'affinage, et interviennent également dans le développement du goût (Hermier et al, 1992).

- **Levure**

Le dénombrement des levures présentes dans le fromage analysé a montré une charge de $2,3 \cdot 10^4$ UFC/g. Ce résultat montre que le fromage de type Jben contient une charge

fongique. Plus proche à celle du fromage montasio ayant une charge $4,4 \cdot 10^4$ UFC/g (Marino et al, 2003) et celle du Jben contenant une charge $3 \cdot 10^4$ UFC/g (Mennane et al, 2007).

- **Les moisissures**

Le résultat d'analyse microbiologiques effectuée sur notre échantillon de fromage révélé une charge en moisissures de $0,56 \cdot 10^3$ UFC/g. Les moisissures ont un rôle très actif dans l'affinage de certains fromages comme les fromages à pâte molles (Fredot, 2009). Les résultats obtenus montrent que Jben est moins chargé en moisissures que le fromage montasio ayant une charge de $5,4 \cdot 10^3$ UFC/g (Marino et al, 2003).



Figure 12: Aspect de levures et moisissures

Sur milieu OGA

I.1.4. Flore lactique

- **streptocoques lactique (lactocoques)**

La charge microbienne, en streptocoques lactiques, obtenu pour le fromage analysé est $1,02 \cdot 10^6$ UFC/g. La charge bactérienne en streptocoques lactiques est inférieure à celle du fromage bouhazza ($4,36 \cdot 10^7$ UFC/g), rapport par Aissaoui et al. (2011) et celle du fromage montasio ($9,1 \cdot 10^6$ UFC/g) (Marino et al., 2003).



Figure 13: Aspect de lactocoques sur milieu M17

- **Lactobacilles**

Le résultat de dénombrement des lactobacilles dans le fromage artisanal « Jben) montre une valeur de $0,93.10^3$ UFC/g. Le nombre des lactobacilles dans le Jben est faible à celui trouvé dans le fromage Bouhazza ($3,6.10^7$ UFC/g) (Aissaoui Zitoun et al, 2011) et dans le fromage montasio ($9,1.10^7$ UFC/g) (Marino et al, 2003). Aussi, d'après le résultat de Mennane et al. (2007) effectué sur le Jben (Maroc), ce fromage contient une charge microbienne de 3.10^3 UFC/g, cette valeur est forte comparé a celle obtenu dans le fromage « Jben ». Aussi, ces valeurs sont faibles par rapport au résultat obtenu par Bouadjaib (2003) ou le nombre des lactobacilles est $5,55.10^9$ UFC/g.



Figure 14 : Aspect de lactobacille sur milieu MRS

I.1.3. Coliformes totaux et fécaux

A- Coliformes totaux

Pour les coliformes, le résultat obtenu a montré une charge bactérienne en coliformes totaux de $6,59.10^3$ UFC/g. Selon les normes **J.O.R.A. (1998)** (tableau) la valeur des coliformes totaux de Jben est située entre la limite d'acceptabilité (3.10^3) et la limite corrompu.

Tableau 9 : Normes microbiologiques du fromage à pâte molle (**J.O.R.A. 1998**)

Fromage à pâte molle	< m qualité satisfaisante UFC/g	< M limite d'acceptabilité UFC/g	> S corrompu UFC/g
Coliformes totaux	10^2	3.10^3	10^5
Coliformes fécaux	10	3.10^2	10^4

Par comparaison aux fromages artisanaux, Jben présente un nombre total de coliformes inférieurs de celui Jben ayant une charge de 3.10^4 UFC/g (Mennane Z et al, 2006).



Figure 15: Aspect de coliformes totaux sur milieu VRBL

B-Coliformes fécaux

Le résultat obtenu montre que le nombre des coliformes fécaux est de $5,3 \cdot 10^3$ UFC/g. Ce résultat est supérieur à ceux du montasio (10 UFC/g), publié par (Marino et al, 2003). Selon le tableau, la charge en coliformes fécaux de Jben est située entre $3 \cdot 10^2$ et 10^4 , c'est-à-dire la charge trouvée dans Jben est supérieure à la limite d'acceptabilité ($3 \cdot 10^2$) et inférieure à la limite de toxicité (10^4 UFC/g). De ce fait, ce fromage est d'une qualité inacceptable sans pour autant être toxique.

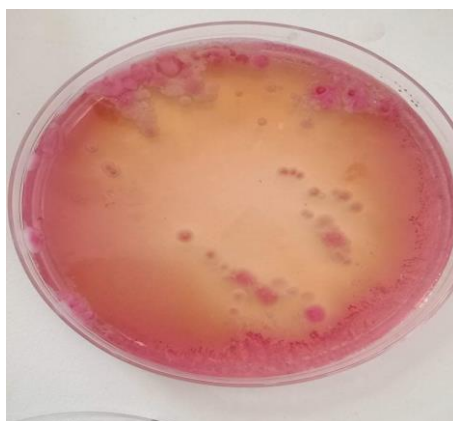


Figure 16: Aspect de coliformes fécaux sur milieu VRBL

II.2.Critères morphologiques et biochimiques

- **Examen macroscopique**

Examen macroscopique sur milieu solide PCA montre des colonies circulaires (lenticulaire) bombées et de couleur crème, leur taille est d'environ 1 mm à 6 mm de diamètre. Examen macroscopique des coliformes et coliformes fécaux sur milieu solide VRBL montre des colonies régulières, semi-bombées, et de couleur rouge/rose, leur taille est environ 0,5 mm à 2 mm de diamètre, d'aspect lisse, les colonies sont grasses, crémeuses. **Pour les levures et moisissures l'étude** macroscopique sur milieu solide OGA montre des colonies rondes bombées et brillantes, certains d'entre eux d'aspect veloutés. **En ce qui concerne l'aspect** macroscopique des bactéries lactiques (**streptocoques lactique, lactocoques ou**

enterocoques) sur milieu solide M17 montre des petites colonies de couleur marron (**Figure 18**). Examen macroscopique des lactobacilles sur milieu solide MRS montre des colonies rondes, semi-bombées et de couleur blanche, leur taille est d'environ 0,5 mm de diamètre.

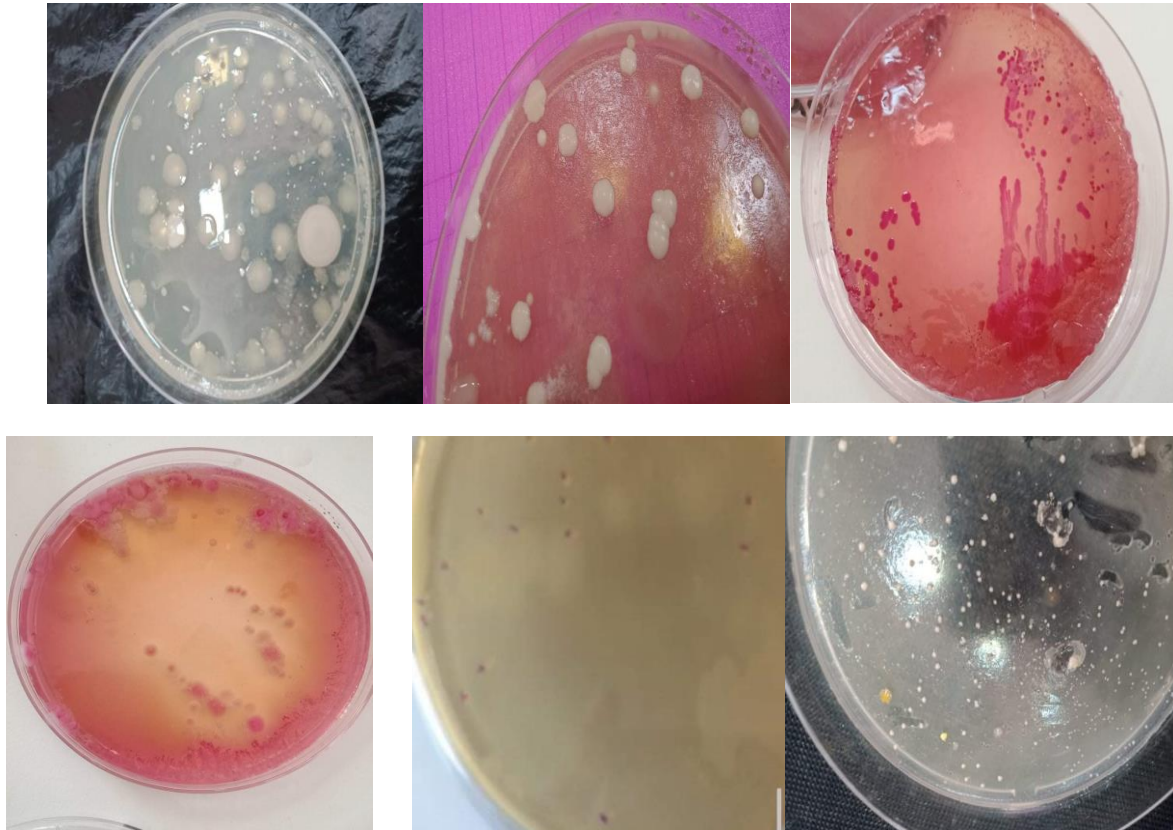


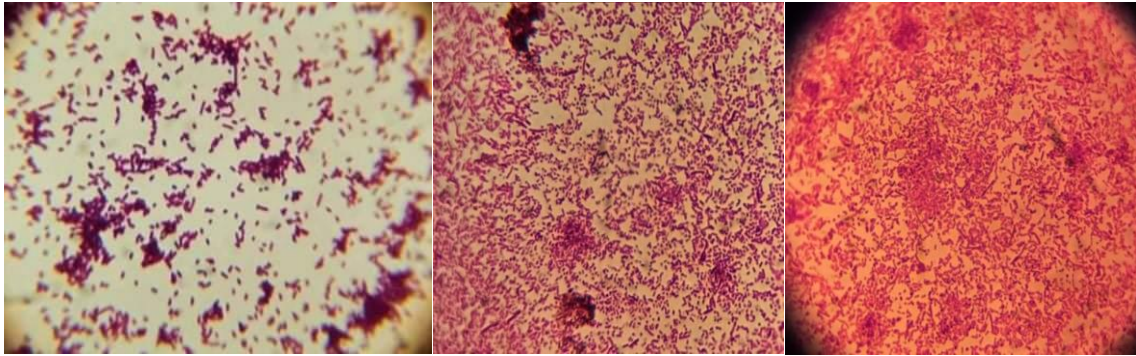
Figure:17 : l'aspect macroscopique de groupe des bactéries lactiques et flore total présent dans notre échantillon de fromage type « Jben »

Tableau 10: Résultats de dénombrement des principales flores microbiennes de Jben

Matière analysée (UFC/ g)	Jben (un échantillon)
FMAT	$2,40.10^6$
Lactocoques	$1,02.10^6$
Lactobacilles	$0,93.10^3$
Levures	$2,3.10^4$
Moisissures	$0,56.10^3$
Coliforme totaux	$6,59.10^3$
Coliforme fécaux	$5,3.10^3$

Identification microscopique

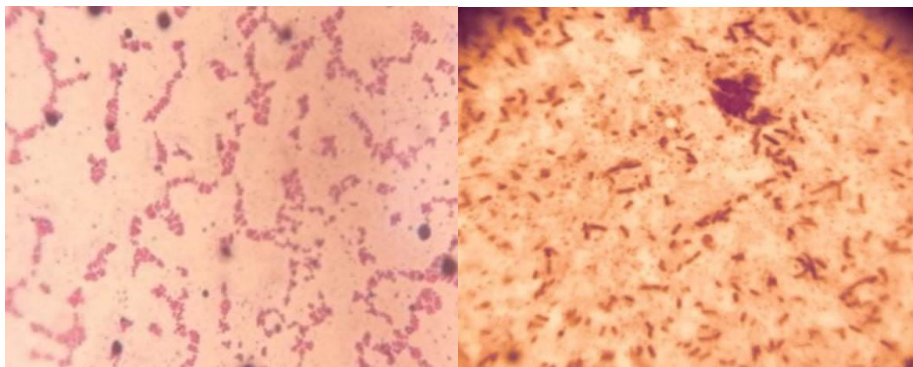
L'aspect microscopique après coloration de Gram a révélé deux formes de cellules. Des coques disposées en paires (diplocoques) ou en courtes chaînettes et des bâtonnets présents en courts chaînettes à Gram négatif (**Figure 19; Figure20**).



(1)

(2)

Figure 18 : Aspect microscopique après coloration de Gram des isolats représentatifs appartenant au FMAT (1) et coliformes totaux et fécaux (2)



(3)

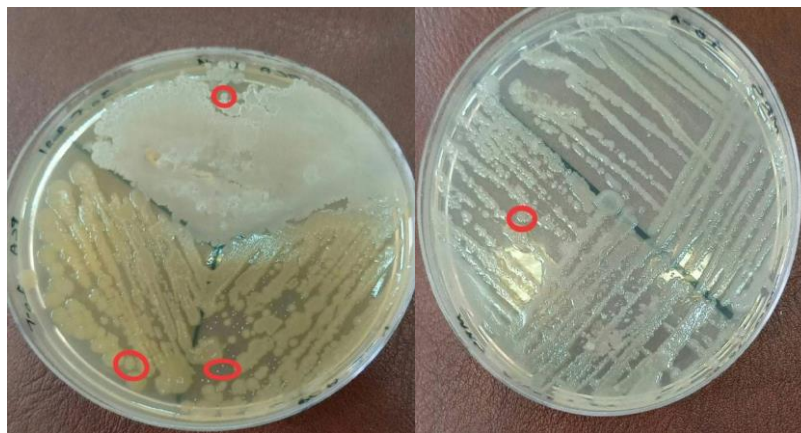
(4)

Figure19 : Aspect microscopique après coloration de Gram des isolats lactocoques (3) et lactobacilles (4)

Tableau 11: Les résultats différentes microflore dans notre échantillon

Les germes recherchés	Aspect de colonies	Test morphologique		Test biochimiques catalase
		Gram	Forme	
Flore mésophile aérobie totale	Lenticulaire ≠ taille jaunâtre	–	Bacille cocci	–
Levures et moisissures	Rond ≠ taille blanche	/	/	/
lactobacilles	Rond petit blanche	–	Bacilles courtes	–
lactocoques	Rond petit marron	–	Cocci en courtes chaînes	–
Les coliformes	Circulaire moyenne rouge/rose	–	Cocci en paires + bacilles en courtes chaînes	–
				/

II.3. Identification phénotypique et biochimique des isolats



(A)

(B)

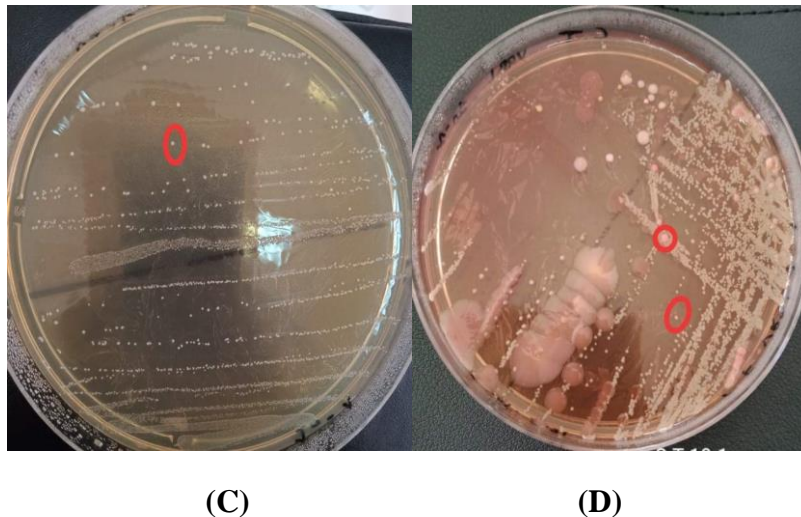


Figure 20 : Aspect macroscopique des souches FMAT (A), *lactobacillus* (B), *lactococcus*(C) et coliformes (D)

Examen macroscopique

L'examen macroscopique sur milieu solides PCA, VRBL, M17 et MRS, montre des colonies circulaires bombées et de couleur blanche pour les bactéries lactique (*Lactococcus* (C), et *Lactobacillus* (B)), leur taille est environ 0,5 à 2 mm de diamètre. Des colonies circulaires bombées de couleur blanche, et crème, leur taille est différentes. Des colonies circulaires bombées de couleur blanche et rose, leur taille est d'environ 0,5 à 1mm de diamètre (Figure 21).

Examen microscopique

Les figures suivantes représentent plusieurs souches vues sous microscope à l'objectif $\times 100$.Après coloration de Gram à révéler deux formes de cellules : coques et bâtonnets. Les coques sont disposées en paires, les bâtonnets présents des cellules associés en amas, les coques et les bâtonnets apparaissant en couleur violet (à Gram positif).

L'observation microscopique à révéler que les colonies sont des Gram négatives, de forme cocci en courtes chaînes pour les lactocoques(Figure 22) et de forme court bacilles pour les lactobacilles(Figure 23).

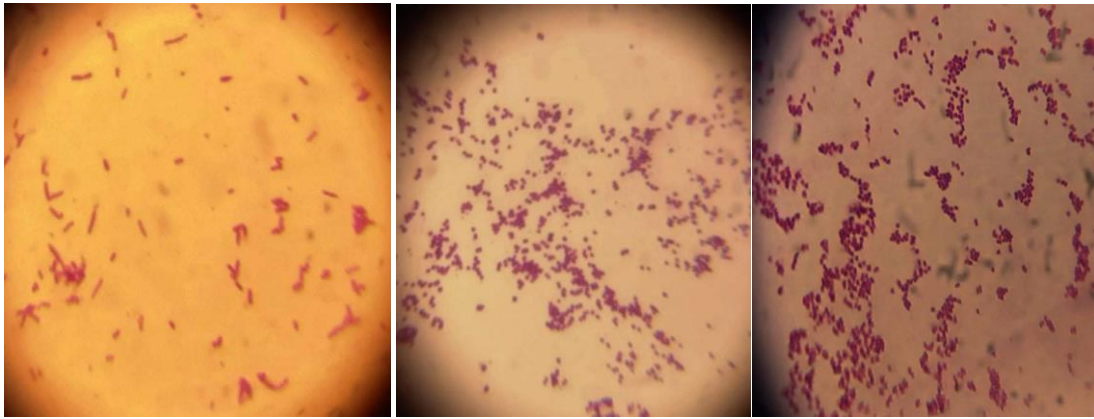


Figure 21 : Aspect microscopiques et formes cellulaires ; des coques disposées en paires, diplocoques ou amas après coloration de Gram a révélé deux formes de cellules.

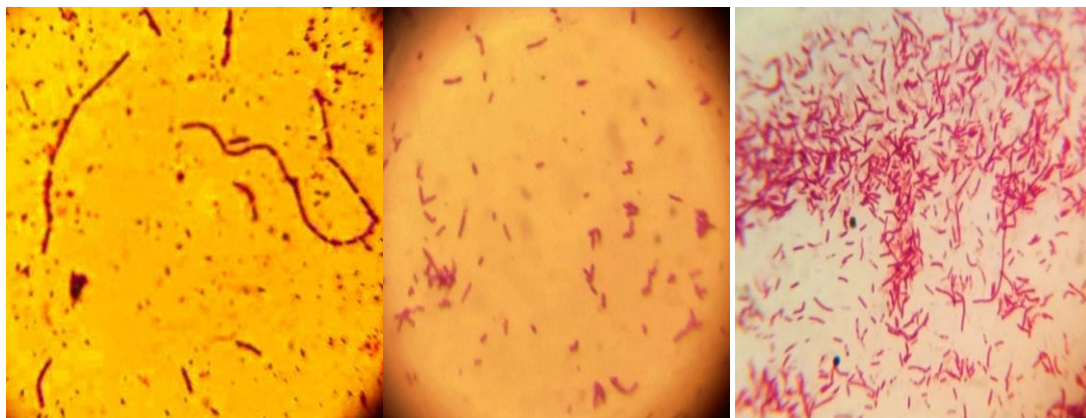


Figure 22 : Aspect microscopiques et formes cellulaires ; des bacilles disposées en paires, diplocoques ou longue chaîne après coloration de Gram a révélé deux formes de cellules.

Test catalase

Toutes les souches isolées ne représentaient pas d'effervescence lors l'ajout d'une goutte de H_2O_2 , ce qui s'explique par le fait que ces bactéries ne possèdent pas d'activité catalasique.

CONCLUSION

Conclusion

Aucours de cette étude on a réalisé des analyses microbiologiques pour connaitre la qualité bactériologique d'un échantillon de « Jben » de la région de Mechria de la wilaya de Naama.

L'analyse microbiologique a porté sur 5 groupes microbiens :

Parmi les groupes indicateurs d'hygiène (coliformes totaux et coliformes fécaux), la flore aérobie mésophile totale qui est un indicateur qui tente de représenter la charge microbienne totale d'un aliment et certains genres de la flore lactique (lactobacilles et lactocoques).

Certain niveaux de contamination on a été interprétés sur la base des critères microbiologiques précisés **JORA**.

Le dénombrement des coliformes totaux et fécaux permet de souligner contamination d'échantillon analysé avec des moyennes respectives de $6,59.10^3$ UFC/g et $5,3.10^5$ UFC/g, et une charge importante de flore totale.Par ailleurs, on relève une faible charge de lactobacilles $0,93.10^3$ UFC/g. La contamination de Jben peut être due à la contamination de la matière première (le lait) ou au cours de la fabrication (le mal nettoyage de matériel utilisé, la mal préparation...).

La qualité microbiologique de ce Jben est non satisfaisante donc sa consommation est déconseillée.

Nous recommande l'arrêt de commercialisation de ce Jben jusqu'à l'amélioration des procédés de fabrication par le respect d'hygiène.

RÉFÉRENCE
BIBLIOGRAPHIQUE

Référence Bibliographique

- 1) **ABABSA A., 2012** - Recherche de bactériocines produites par les bactéries lactiques du lait. Mémoire de Magister, Univ. Ferhat Abbas, Sétif.
- 2) **ABDESSALAM A., 1984** - Contribution à l'étude du lait des ceintures laitières ériurbaines de la zone cotonnière du Sénégal, Thèse de Médecine Vétérinaire, Univ. Dakar, 126p.
- 3) **ABID Z., 2015** - Étude de l'activité antimicrobienne des souches de bactéries lactiques isolées d'un produit laitier traditionnel Algérien «Jben ». Mémoire de master, Univ. Abou BekrBelkaid, Tlemcen.
- 4) **ACHEMCHAM F., ABRINI J., MARTINEZ., BUENO M., VALDIVIA E., MAQUEDA M., 2004** - Purification et caractérisation d'une bactériocine anti-Listeria produite par Enterococcus faecium isolé à partir de lait cru de chèvre, Univ. Abdelmalek Essaadi, 384p.
- 5) **ALAIS C., 1984** - Science de lait : principes des techniques laitières. 4ème édition. Sepaic. Paris, 814 p.
- 6) **BALIARDA A., 2003** - Evaluation de la réponse au stress chez les bactéries lactiques appartenant aux genres pediococcus et tetragenococcus, Approches physiologiques et génétiques, Univ. Bordeaux, 174p.
- 7) **BELARBIE F., 2011-** Isolement et sélection des souches de bactéries lactiques productrices des métabolites antibactérienne. Mémoire de magister, Univ. Oran, 03-06p.
- 8) **BELBELDI A., 2013-** Contribution à la caractérisation du fromage Bouhezza : contenu lipidique et vitamines. Mémoire de Magister, Univ, Mentouri , Constantine, 190p.
- 9) **BENCHARIF A., 2001-** Stratégies des acteurs de la filière lait en Algérie: états des lieux et problématiques. Options Méditerranéennes Série B. Etudes et Recherches 25-45 p.
- 10) **BENHEDANE N., 2012-** Qualité microbiologique du lait cru destinée à la fabrication d'un type de camembert dans une unité de l'est. Mémoire de magister, Univ. Mentouri , Constantine, 13-14p.
- 11) **BENKERROUM N et TAMIME A., 2004-**Technologytransfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben and smen) to small industrial scale. Food Microbiol, 399–413p.
- 12) **BERODIER A., 2015-** Les évolutions de la flore microbienne dans les laits et les fromages cellulaire et moléculaire. Univ. Abdelmalek Essaadi, 384p.
- 13) **BRISABOIS A., LAFARGE V., BROUILLARD A., BUYSER M., COLLETTE C., GARIN-BASTUJI B et THOREL M., 1997-** Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers. situation en France et en Europe, Science technologique, 452-471p.
- 14) **DAOUDI A., 2006-** Qualité d'un fromage local de bas de lait de chèvre. Mémoire de Magister, Univ. Hassiba ben-Bouali, Chlef.

- 15) **DJEDDI M et CHABANE A., 2014-** Les bactéries lactiques en alimentation rôle biotechnologique et activité antimicrobiens. Mémoire de Licence, Univ. Chikh Larbi Tebessi, Tébessa.
- 16) **DJOUHRI K et MADANI S., 2015-** Etude microbiologique d'un produit laitier fermenté traditionnel (Jben) : isolement et identification des bactéries lactiques. Mémoire de Master, Univ. Ouargla, Algérie, 05 p.
- 17) **DUBEUF J., 1996-** Les perspectives de développement de la filière lait de chèvre dans le bassin méditerranéen. Ed. Thomas, Maroc..
- 18) **FAO, 1995-** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO Alimentation et nutrition n°28.
- 19) **FREDOT., 2006-** Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la Diététique. Tec et Doc, Lavoisier, 397 p.
- 20) **GUIRAUD J., 1998-** Microbiologie des principaux produits laitiers. Ed. Dunod, Paris, 65p.
- 21) **GUIRAUD J., 2003-** Microbiologie Alimentaire. Ed. Dunod, Paris, 136-139p.
- 22) **GONZALEZ et al., 2007- In BOUADJANI W.,2009-**Action de la flore lactique sur les bactéries contamination. Mémoire d'ingénieur, Univ. Tlemcen, 73 p.
- 23) **HALLEL A., 2001-** Fromages traditionnels algériens. Quel avenir, Revue Agro ligne ; 14- 43-47p.
- 24) **HAMIROUNE M., BERBER A., BOUBAKEUR S., 2014-** Qualité bactériologique du lait cru de vaches locales et améliorées vendu dans les régions de Jijel et de Blida (Algérie) et impact sur la santé
- 25) **HASSAN N., JOSEPH F., FRANK., KARSTEN B., QVIST., 2002-** Direct observation of bacterial exo polysaccharides in dairy products using confocal scanning laser microscopy. Journal of Dairy Science 85 (7): 1705-1708p.
- 26) **HEBBOUL F., MAZOUZI H., SOLTANI S., 2005-** Etude comparative de la qualité alimentaire entre trois types de lait frais : bovin, caprin, camelin. Mémoire d'ingénieur, Univ. Laghouat, 71p.
- 27) **KABIR A., 2015-** Contrainte de la production laitière en Algérie et Evaluation de la qualité des laits dans l'industrie laitière (Constats et perspective). Thèse de doctorat, Univ. Ahmed Ben Bella, Oran.
- 28) **KHATER I et GHEFAR M., 2017-** Dénombrement et caractérisation de la flore lactique et la flore de contamination du « jben » traditionnel fabriqué par des coagulants de nature végétale. Mémoire de MASTER, UNIV. Abou BekerBelkaid, Tlemcen, 15p.

- 29) **LAHSSAOUI ., 2009-** Etude de procédé de fabrication d'un fromage traditionnel (klila). Mémoire d'Ingénieur, Univ. El Hadj Lakhdar, Batna.
- 30) **LAITHIER C., 2011-** Microflore du lait cru. Institut de l'Elevage, RMT filières fromagères valorisant leur terroir, 11p.
- 31) **LEKSIR C et CHEMMAM M., 2015-** Contribution à la caractérisation du Klila, un fromage traditionnel de l'est de l'Algérie. Univ. 8 Mai 1945, Guelma.
- 32) **MENNANE Z., KHEDID K., ZINEDINE A., LAGZOULI M., OUHSSINE M., ELYACHIOUI M., 2007-** Microbial Characteristics of Klila and Jben Traditional Moroccan Cheese from Raw Cow's Milk. World Journal of Dairy and Food Sciences, 23-27p.
- 33) **MIETTON B., DESMAZEAUD M., ROISSART H., WEBER F., 1991-** Transformation du lait en fromage; in Les Bactéries Lactiques II. Ed. Technique et Documentation. Lavoisier, Paris.
- 34) **NOOR -DEVELIET P., GIST-BROCADES N., DELFT N., 1983-** Les Enzymes Alimentaires : Utilisation et Innocuité. Microbiologie Alimentaire, 1 : 15p.
- 35) **OUADGHIRI M., 2009-** Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés « lben » et « jben » d'origine marocaine. Thèse de doctorat, Univ. Mohammed V agdal faculté des sciences , Rabat, 26-28p.
- 36) **PRESCOTT L., HARLEY J., DONALD A., 2003-** Microbiologie, De Boeck université, 2eme édition française, 41-73p.
- 37) **ROA I., LOPE M., MENDIOLA F., 1999-** Residual clotting activity and ripening, properties of vegetable rennet from *Cynaracardunculus* in La Serena cheese. Food Res Intern.32, 413-419p.
- 38) **TOLLE A., 1980-** The microflora of the udder. Bull. Int. Dairy Fed, 120: 4-10p.
- 39) **TORMO H., 2010-** Diversité des flores microbiennes du lait crus de chèvre et facteurs de variabilité .Thèse en vue de doctorat, Univ. Toulouse, 238 p.
- 40) **ZAIDI O., 2002-** Caractérisation du fromage traditionnel bouhezza, caractérisation microbiologique. Mémoire d'ingénieur INATAA, Constantine, Algérie. 51 p.

ANNEXES

Composition des diluants (g/l)

• **Eau peptoné :**

Peptone	1g
Chlorure de sodium	8,5g
Eau distillée	1000 ml

• **Eau peptoné tamponée :**

NaCl	5g
Peptone	10g
Na ₂ HPO ₄ · H ₂ O	9g
K ₂ HPO ₄	0.3g
Eau distillée	1000 ml

• **Eau physiologie 9 /ml NaCl**

NaCl	9g
Eau distillée	1000 ml

• **Citrate de sodium (2%) :**

Citrate de sodium	2g
Eau distillée	100ml

Composition des milieux de cultures (g/l)

• **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

Annexes

Agar 15g
Eau distillé q.s.p 1000 ml
pH=7±0.2 à 37°C

- **Gélose nutritive :**

Peptone5g
Extrait de viande1g
Extrait de levure2g
Chlorure de sodium..... 5g
Agar15g
Eau distillée q.s.p.1000 ml

- **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 viande	10g
Extrait de levure	5g
Peptone	10g
Acétate de sodium	5g
Citrate de sodium.....	2g
Glucose	20g
MgSO ₄	25g
MnSO ₄	0,05g
KH ₂ PO ₄	2g
Agar-agar	15 g (uniquementgélose)
Tween 80.....	1 ml
Eau distillée q.s.p.....	1000 m

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

- **Fuchsine de Ziehl :**

Fuchsine bosique 10g

Phénol 50g

Ethanol à 0.5 10 ml

Eau distillée 1 ml