

N° d'Ordre :

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ DJILLALI LIABES DE SIDI BEL ABBES

FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

Mémoire

De fin d'études pour l'obtention du diplôme de
Master Domaine : Sciences de la nature et de la vie

(S.N.V.) Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Intitulé du thème :

Étude de la diversité microbienne du Jben fabriqué localement

Présenté par : Melle Neoui Zohra

Melle Neoui Rabia

Mémoire soutenu devant l'honorable jury composé de :

Président de jury : Mme Bousmaha-Marroki .M.C.A/ UDL/SBA)

Examineur : Melle Kanoun Khedoudja M.C.A UDL/SBA)

Promoteur : Mr Marroki Ahmed (M.C.A/ UDL/SBA)

Année universitaire 2019 - 2020

Session : « Septembre »

Dédicace

Aux deux être les plus chers à mon cœur sur cette terre; *ma mère*, qui a su habilement guider mes premiers pas dans ce monde. Dieu l'a sauvée Et a *mon cher père*, dont le courage l'éducation ont fait de moi ce que je suis, Mon Seigneur allonge ma vie.

A mon frère

Toute ma famille et belle famille.

A tous mes amis(es).



Rabia

Dédicace

Aux deux être les plus chers à mon codeur sur
cette terre; *ma mère*, qui a su habilement guider
mes premiers pas dans ce monde.

Que Dieu la bénisse.

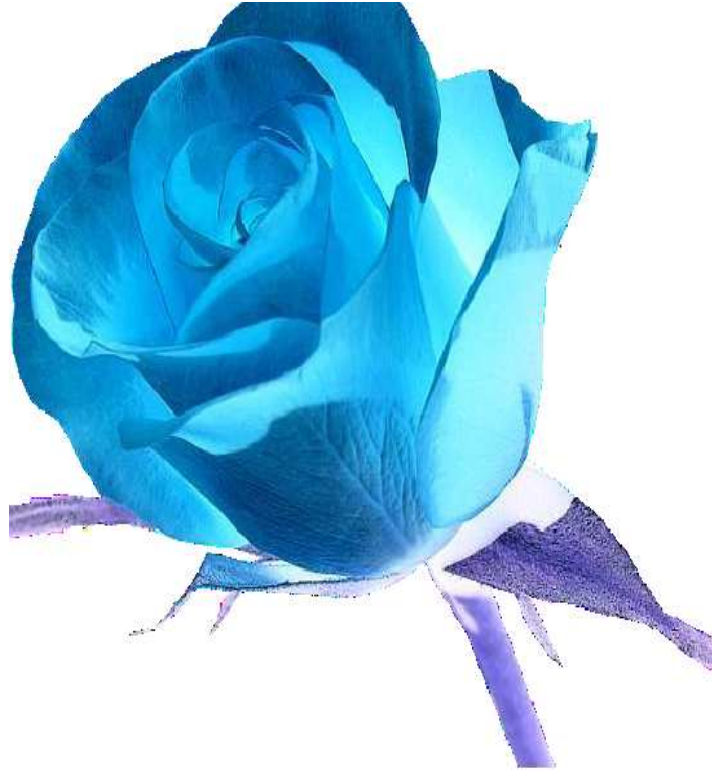
Et a *mon cher Père*, dont le courage

L'éducation ont fait de moi

A mon frère.

Toute ma famille et belle famille.

A tous mes amis(es).



Zohra

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. Sont qui ont contribué d'une façon ou autre à l'aboutissement de ce Travail.

Nos remerciements vont en particulier à :

Une grand merci à notre promoteur Dr Ahmed Marroki qui nous a encadré au long de notre travail. Nous remercions les membres de jury Dr Bousmaha-Marroki Leila et Kanoune Kedoudja.

Nos sincères remerciements et notre profonde gratitude à tous ceux qui de près ou de loin ont participé à la rédaction de ce document.

A nos collègues de la promotion master 2 Microbiologie Appliquée.

Liste des abréviations

Liste des abréviations

ADN: Acide Désoxyribonucléique

BL/LAB : Bactéries Lactiques/Lactic Acid Bacteria

DLC : date limites de consommation.

DLC : date limites de consommation.

FAO/OMS: Food and Agriculture Organization /Organisation Mondiale de la Santé.

FTAM : flore totale aérobie mésophile

G+C : Guanine+Cytosine

GRAS "Generally Recognized As Safe

ISO : organisation Internationale de normalisation (International Organisation for Standardization)

M17 : Milieu lactose d'isolement des lactocoques

MG : matière grasse.

MRS : Milieu Man Rogosa et Sharp

NaCl : Chlorure de sodium

PCA : Plate Count Agar

pH: Power of hydrogen: potentiel hydrogène

UFC: Unité formant Colonie

VRBL : Gélose Biliée Lactosée au cristal Vert et au Rouge neutre.

Liste des Figures

La liste des figures

Figure 01 : Forme cellulaire de <i>Lactobacillus</i> (http://fr.wikipedia.org/wiki/Lactobacillus	13
Figure 02 : Genre <i>Lactococcus</i> (http://fr.wikipedia.org/wiki/Lactococcus).....	14
Figure 03 : Genre <i>Enterococcus</i> (http://fr.wikipedia.org/wiki/Enterococcus)	15
Figure 04 : Genre <i>Streptococcus</i> (http://fr.wikipedia.org/wiki/Streptococcus)	16
Figure 05 : Principales voies assurant le transport et le métabolisme du glucose par les bactéries lactiques (KANDLER, 1983).....	18
Figure 06 : Système protéolytique des bactéries lactiques (KUNJI <i>et al.</i> , 1996).....	19
Figure 07 : Fleur du cardon (www.blogs.afrique.info)	21
Figure 08 : Schéma des méthodes de préparation de j'ben	25
Figure 09 : Présentation du fromage (djben).....	27
Figure 10 : Aspect macroscopique des isolats bacilles sur gélose MRS	29
Figure 11 : Aspect macroscopique des isolats sur milieu MRS (A) et M17 (B)	29
Figure 12 : Observation de la lame colorée.....	30
Figure 13 : Lactobacilles et streptocoques colorés au bleu de méthylène.....	30
Figure 14 : <i>Lactobacilles</i> et <i>Streptocoques</i>	31
Figure 15 : Observation microscopique des isolats lactiques à l'état frais (a) : bacilles (b) ovoïdes (c) Coques.....	32
Figure 16 : Aspect microscopique après coloration de Gram de des lactobacilles (grossissement X100).....	33
Figure 17 : Observation microscopiques (Objectif X100) des isolats lactiques avec coloration de Gram (i) Lactobacilles, (ii) Enterocoques.....	34
Figure 18 : Nitrate réductase ; Résultats possible du test.....	37
Figure 19 : Différentes étapes de la mise en évidence du type fermentaire des bactéries lactiques.....	41

Liste des tableaux

La liste des tableaux

Tableau 01: Composition physique et chimique du lait cru (Bouchakour et Djaghlali, 2015).....	08
Tableau 02 : les microorganismes du lait du lait cru (Leyral et Vierling, 2001).....	11
Tableau 03 : Paramètres physico-chimiques du Jben.....	23

Table de matière

Dédicace

Remerciements

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumé

Introduction

I- La partie bibliographique

1- Les fromages traditionnels Algériens	05
1-1- Définition	05
1-2- Produits laitiers traditionnels Algériens	05
❖ Le Bouhezza	05
❖ Le Klila	06
❖ Le Michouna	06
❖ Le J'ben	06
2- Matière première de jben	06
2-1 Définition du lait	06
2-2 Composition physico-chimique du lait	07
2-3 Microbiologie du lait	08
❖ Flore indigène ou originelle	09
❖ Les microorganismes responsables d'altération.....	09
❖ Les bactéries thermorésistantes.....	10
❖ Les coliformes	10
❖ Bactéries psychrotrophes.....	10
❖ Bactéries butyriques.....	10
❖ Levures et moisissure.....	10
❖ Les micro-organismes potentiellement pathogènes.....	11
3- Les bactéries lactiques	12
3-1 Généralités sur les bactéries lactiques	12
3-2 Origine et habitat	12
3-3 Définition et caractéristiques	12

Table de matière

3-4	Les principaux genres de bactéries lactiques du fromage.....	13
❖	Le genre <i>Lactobacillus</i>	13
❖	Le genre <i>Lactococcus</i>	14
❖	Le genre <i>Streptococcus</i>	15
❖	Le genre <i>Enterococcus</i>	16
4-	Intérêt technologiques des bactéries lactiques	16
4-1	Application industrielle des bactéries lactiques	16
4-2	Rôle de probiotique	16
4-3	Rôle d'inhibiteurs de pathogènes	17
5-	Métabolisme des bactéries lactiques	17
5-1	La glycolyse	17
5-2	La protéolyse	19
6-	Le fromage frais	19
6-1	Définition du fromage frais	19
6-2	Technologie des fromages	20
❖	La coagulation	20
❖	L'acidification lactique du lait ou l'addition d'acide.....	20
❖	La coagulation par la présure ou une autre protéase coagulante	20
❖	A coagulation par les extraits de plantes	21
❖	La coagulation mixte	21
❖	L'égouttage	21
7-	Le fromage traditionnel en Algérie type J'ben	22
7-1	Définition du fromage frais (J'ben)	22
7-2	Caractéristiques physico-chimiques du J'ben	23
7-3	Microflore du fromage frais type Jben.....	24
8-	Les étapes de fabrication du fromage frais type J'ben	24
8-1	la maturation	24
8-2	Coagulation	24
8-3	L'égouttage	24

Table de matière

II- Partie Matériel et méthode

II-I Méthodologie envisagée pour la réalisation de l'objectif tracé dans ce mémoire	27
1- Méthodologie	27
II-II Matériel et méthode	27
1- Echantillonnage et prélèvement d'échantillons	27
1-1 Méthodes d'échantillons du fromage (jben)	27
1-2 Lieu de prélèvement	27
2- Les méthodes phénotypiques tracées s'articule autour de l'étude de l'aspect macroscopique et microscopique des souches	28
2-1 Les méthodes phénotypiques	28
❖ Isolement des souches.....	28
❖ Purification des souches.....	28
3- Etude Macroscopique et Microscopique	29
3-1 Etude macroscopique	29
3-2 Etude microscopique.....	29
❖ La méthode de coloration de Bleu de méthylène.....	29
❖ La coloration de gram.....	33
4- Méthode de dénombrement	34
4-1 La méthode de dénombrement de la flore mésophile totale.....	35
4-2 Méthodes de dénombrement du coliforme et coliforme fécaux.....	35
5- Test physiologique	36
5-1 Le test de Catalase	36
5-2 La recherche de la Nitrate Réductase	36
6- Température de croissance	38
6-1 Croissance en présence de différentes concentrations de NaCl.....	38

Table de matière

6-2	La Croissance à pH 4 et 6,5.....	40
6-3	Test du type fermentaire production de CO ₂ à partir du glucose.....	40
7-	Test biochimiques	42
7-1	La méthode API 20 strép.....	42
7-2	La méthode API 50 CHL.....	43
Conclusion		46
Référence bibliographiques		47
Annexe		57

Résume

La fabrication des fromages traditionnels implique l'utilisation de lait cru après fermentation sans utilisation des auxiliaires ou des levains lactiques. Les microflores présentes dans ce type de produit sont diversifiées composées d'une population microbienne endogène naturelle apportée par le lait utilisé dans la fabrication de ce type de produit. L'objectif tracé dans ce projet d'étude est de déterminer la biodiversité microbienne de ce type de produit fabriqué localement. Les analyses microbiologiques tracées pour la réalisation de l'objectif de notre sujet porte sur l'isolement, l'identification et la caractérisation des principaux la microflore du fromage en particulier les bactéries d'intérêt technologiques de produits final. Vu la crise sanitaire qui a touchée notre pays par l'apparition du COVID-19 l'ensemble des travaux au niveau de laboratoire ont été suspendus. Pour cela, le mémoire rédigé synthétise l'ensemble les notions théoriques sur les principaux genres des bactéries lactiques et en particulier le genre de *Lactobacillus* et *Streptococcus* et le rôle de ces microorganismes en technologie fromagère en particulier et la deuxième partie résume les principaux les méthodes qui peuvent être employées pour mettre en évidence l'identification et la caractérisation des principaux microorganismes de ce type de fromage.

Mots clés : fromage traditionnel ; microflore ; lait cru, biodiversité.

The manufacture of traditional cheeses involves the use of raw milk after fermentation without the use of auxiliaries or lactic starter. The microflora present in this product are diversified composed of a natural endogenous microbial population provided by the milk used in the manufacture of this product. The objective set out in this study is to determine the microbial biodiversity of this type of locally produced product. The microbiological analyzes traced for the achievement of the objective of our subject relate to the isolation, identification and characterization of microflora of cheese in particular bacteria with technological interest for final products. Given the health crisis that has affected our country by the appearance of COVID-19, all work at the laboratory level has been suspended. For this reason, the manuscript synthesizes all the theoretical notions on the main genera of lactic acid bacteria and in particular the genus of *Lactobacillus* and *Streptococcus* and the role of these microorganisms in cheese technology in particular and the second part summarizes the main methods that can be used to highlight the identification and characterization of the main microorganisms of this type of cheese.

Keywords: traditional cheese; microflora; raw milk, biodiversity.

ملخص

يتضمن تصنيع الجبن التقليدي استخدام الحليب الخام بعد التخمير دون استخدام المواد المساعدة أو البادئ اللبني. تتنوع البكتيريا الموجودة في هذا النوع من المنتجات وتتكون من مجموعة ميكروبية داخلية طبيعية يوفرها الحليب المستخدم في تصنيع هذا النوع من المنتجات. الهدف المحدد في مشروع الدراسة هذا هو تحديد التنوع البيولوجي الميكروبي لهذا النوع من المنتجات المنتجة محلياً. تتعلق التحليلات الميكروبيولوجية التي تم تتبعها لتحقيق هدف موضوعنا بعزل وتحديد وتصنيف النباتات الدقيقة الرئيسية للجبن وخاصة البكتيريا ذات الأهمية التكنولوجية للمنتجات النهائية. نظراً للأزمة الصحية التي أثرت على بلدنا بظهور COVID-19 ، فقد تم تعليق جميع الأعمال على مستوى المختبر. لهذا ، تلخص الأطروحة المكتوبة جميع المفاهيم النظرية حول الأجناس الرئيسية لبكتيريا حمض اللاكتيك وعلى وجه الخصوص جنس *Lactobacillus* و *Streptococcus* ودور هذه الكائنات الحية الدقيقة في تقنية الجبن بشكل خاص والجزء الثاني يلخص الطرق الرئيسية التي يمكن استخدامها لتسليط الضوء على تحديد وتصنيف الكائنات الحية الدقيقة الرئيسية لهذا النوع من الجبن.

الكلمات الرئيسية: الجبن التقليدي؛ الميكروفلورا. الحليب الخام والتنوع البيولوجي.

Introduction

Introduction

Le lait est un produit indispensable à l'équilibre de l'alimentation humaine. Il contient de nombreux nutriments qui fortifient notre organisme : protéines, glucides, lipides, sels minéraux, vitamines et oligo-éléments. Le lait fut de tous temps un symbole de fertilité, de richesse et d'abondance. Il représente un milieu biologique fortement altérable par voie microbienne en raison de sa forte teneur en eau, de son pH voisin de la neutralité et de sa richesse en composants biodégradables (lactose, protéines et lipides) (**Huyghebaert, 2006**).

L'Algérie a une tradition des produits laitiers bien établie, transmise de génération en génération, qui a un aspect important de la culture algérienne. Les femmes algérienne comme toutes les cultures pastorale, ont toujours été les principales protagonistes auteurs de la transformation de lait. (**Claps et Morone, 2011**).

Cette transformation se fait par l'intermédiaire des bactéries lactiques. Les bactéries lactiques présentent un grand intérêt dans l'industrie. Elles assurent non seulement des caractéristiques particulières d'arômes et de texture mais aussi une bonne sécurité alimentaire. Cette sécurité est favorisée grâce à la production des acides organiques (acides lactiques et acétiques), qui font baisser le pH dans le milieu, et par la synthèse de bactériocines qui renforce cette conservation (**Bekhouché et Boulahrouf, 2005**).

En Algérie, le lait cru est transformé par des méthodes traditionnelles en fromage frais «Jben», et autres produits laitiers. Ces produits retiennent leurs qualités désirables même après une longue conservation à température ambiante.

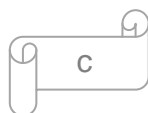
En Algérie, les fromages traditionnels sont peu nombreux, et non entièrement recensés. Il y a environ dix types de fromages connus dans différentes régions du pays (Aissaoui Zitoun et *al.*, 2012). Les fromages Bouhezza, Michouna et Madeghissa sont fabriqués dans la région des Chaouia (Nord-est), Takammèrite et Aoules dans le sud, Igounane en Kabylie, quant au Klila et au Jben, ils sont connus dans plus d'une région (Hallal, 2001). Ces fromages restent encore non labellisés, leur fabrication est destinée à l'autoconsommation au niveau familial. Certains d'entre eux sont plus ou moins commercialisés de manière artisanale.

Introduction

Parmi les produits laitiers fermentés, couramment consommés, le fromage traditionnel algérien appelé "jben", très populaire à la campagne et dans des villes aussi, comme Ain Sefra, Mechria, Sebdou ect... Il est fabriqué à partir du lait cru de vache, de brebis ou de chèvre. Sa fabrication demande l'utilisation des enzymes coagulantes d'origine animale comme « Hakka » ou végétales comme les fleurs d'artichauts et de cardon . Les fromages traditionnels hébergent un microbiote diversité, composé de populations microbiennes endogènes, qui joue un rôle majeur dans le développement des qualités nutritionnelles et organoleptiques très sollicitées.

Pour cela nous nous sommes intéressés à étudier quelques échantillons de « jben » provenant de la région de El-Bayadh.

Le travail consiste à isoler des souches lactiques et les caractériser phénotypiquement par des tests physiologiques et biochimiques après isolement et purification.



Partie

Bibliographique

1. Les fromages traditionnels Algériens

1.1. Définition du fromage

Selon le *Codex alimentaires*, (norme FAO/OMS A 6), le fromage est le produit solide ou semi-solide, frais ou affiné, dont le ratio lactosérum/caséine n'est pas supérieur à celui du lait (**Belbeldi, 2013**).

Les fromages frais sont des fromages à égouttage lent, n'ayant subi que la fermentation lactique obtenue avec des laits propres à la consommation humaine (**Mehnoune et Ferhoul, 2015**).

1.2. Produits laitiers traditionnels Algériens

Les laits fermentés sont de produits laitiers transformés par une fermentation essentiellement lactiques qui aboutit à l'acidification et à la gélification de laits (**Leksir, 2012**).

En Algérie, les laits fermentés et les fromages sont fabriqués traditionnellement à la maison et servent à l'autoconsommation. Plusieurs produits traditionnels sont en voie de disparition pour différentes raisons dont le non disponibilité fourragère, l'exode rural et le changement des habitudes alimentaires.

Ceux dont l'usage est le plus répandu, comme le Rayeb et le Jben, tout en gardant le même nom, changent de procédé technologique du fait de leur industrialisation (**Bendimerad, 2013**).

La consommation des produits laitiers est également associée à des effets bénéfiques sur la santé en plus de leurs valeurs nutritionnelles. La transformation du lait de chèvre en produits laitiers traditionnels algériens, tels que Raib Lben et Jben est réalisée via une fermentation spontanée sans l'ajout d'une entrée sélectionnée (**Bouadjaib, 2013**).

- Les produits laitiers traditionnels algériens importants qui ont la signification commerciale sont : Klila, Bouhezza, Jben, , Le Michouna .

1.2.1. Bouhazza

Bouhezza est un fromage traditionnel algérien, fabriqué et consommé depuis l'antiquité par les populations *Chaouia*, qui vivent dans la région d'Aurès (Nord Est d'Algérie) (**Belbeldi, 2013**).

Ce fromage préparé à l'origine à partir de lait de chèvre et éventuellement de brebis mais actuellement il est préparé à partir du lait de vache (**Abid, 2015**).

Il est typiquement fabriqué à partir de lait cru nonensemencé ceci se confirme par sa charge en flore mésophyte et de streptocoque lactique, ces germes sont responsables surtout de la diminution concomitante du pH et de l'augmentation de l'acidité (**Bouadjaib, 2013**).

La fabrication de Bouhezza est caractérisée essentiellement par la préparation de la Chekoua, et du Lben. La Chekoua est la peau animale entière (peau chèvre ou brebis, mais celle de chèvre est la plus utilisée) qui a subi un traitement spécial pour donner la forme d'un récipient utilisé pour la fabrication de Bouhezza (**Belbeldi, 2013**).

1.2.2. La Klila ou caséine desséchée

La Klila est un fromage ferment produit empiriquement dans plusieurs région de l'Algérie, il est fabriquée par un chauffage relativement modérée (55 à 75C°) du Leben jusqu'à ce que le Lben est caille (10 à 15 min) (**Bouadjaib, 2013**).

Le caille est ensuite égouttée spontanément ou pressé, le fromage obtenu est consommée tel qu'il est frais au après un séchage il est utilisée comme un ingrédient après réhydratation dans les préparations culinaire traditionnel (**Abid, 2015**).

1.2.3. Méchouna

Il est fabriqué à partir du lait cru qui est chauffé jusqu'à ébullition. Ensuite, on ajoute de lait fermenté « Lben » ou « Rayeb » et du sel. Le mélange est laissé égoutter (**Oucherif et Sellema, 2015**).

1.2.4. Djben

Selon la norme du *Codex Alimentaires* et la norme internationale FAO/OMS, le fromage frais ou non affiné est le fromage qui est prêt à la consommation peu de temps après fabrication (**Luquet et Corrieu, 2005**).

Jben est un fromage traditionnel frais obtenu par coagulation enzymatique (présure extrait à partir de la caillette de veau). Le lait destiné à la fabrication est chauffé, une fois tiède, un fragment de caillette bovine est macéré dans le lait. Après coagulation du lait et égouttage, le caillé ainsi obtenu peut être salé ou additionné de quelques épices ou de plantes aromatiques (**Djoughri et Madani 2015**).

2. Matière première de jben

2. 1.Définition de lait

Le lait est une sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue, à partir d'une ou de plusieurs traites sans y ajouter ou en soustraire destinée à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur (**FAO ,2000**).

Le lait est liquide secrété par les glandes mammaires des femelles mammifères, après la naissance de jeune. C'est un liquide de composition complexe blanc et opaque d'une saveur

douce, d'une réaction ionique voisine de la neutralité. Dans la nature la fonction du lait est d'être un aliment exclusif des jeunes mammifères, pendant la période critique de leur existence après la naissance, alors que la croissance est rapide et qu'il ne peut lui être substitué d'autres aliments. La grande complexité de la composition du lait répandue à cette fonction (Alais, 1984 ; Amiot et al., 2002).

Selon le congrès international pour la répression des fraudes alimentaires, tenu en 1908, « Le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière ;(vache, jument, chèvre, brebis, etc) bien portante, bien nourrie et non surmenée. Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir du colostrum » (Desjeux, 1993 ; Boudire et Luquet, 1981). Jeantet et al. (2008) rapportent que le lait doit être en outre collecté dans de bonnes conditions hygiéniques et présenter toutes les garanties sanitaires. Il peut être commercialisé en l'état mais le plus souvent après avoir subi des traitements de standardisation lipidique et d'épuration microbienne pour limiter les risques hygiéniques et assurer une plus longue conservation.

2.2. Composition physique et chimique du lait cru

Le lait contient une forte proportion d'eau environ 87 %. Le reste est représenté par l'extrait sec (environ 130g par litre). Les principaux constituants de cet extrait sec : les lipides, les glucides, les protéides, 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. Grâce à ces composants, le lait est une denrée alimentaire possédant des propriétés nutritives très importantes (Daouadi, 2006).

Partie Bibliographique

Tableaux 1. Composition physique et chimique du lait cru (Bouchakour et Djaghlali, 2015).

CONSTITUANTS			QUANTITE (g/L)
	Eau libre	842.625	875
	Eau libre	32.375	
Glucides	Lactose		46
Matière grasse	Matières grasses proprement dite	36	37
	Lécithine (phospholipide)	0.5	
	Partie insaponifiable (stérol, carotène, albumines)	0.5	
Protéines	Caséines	25	32
	Protéines solubles (globulines, albumines)	5.5	
	Substances azotées non protéiques	1.5	
Sels minéraux	Acide citrique	2	8
	Acide phosphorique (P2O5)	3.3	
	Acide chlorhydrique (HCL)	2.7	
Constituants mineurs	Vitamines, enzymes, gaz, dissous, pigment, cellules diverses		Traces

2.3. Microbiologie du lait

Les micro-organismes présents dans le lait ont été 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 (**Laithier, 2011**).

2.3.1. Flore indigène ou originelle

L'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait définit la flore originelle des produits laitiers, à la sortie du pis, les genres dominants sont essentiellement des mésophiles (**Mehnoune et Ferhoul, 2015**). Il s'agit de Microcoques, mais aussi streptocoques lactiques et lactobacilles (**Bezzalla et Gouttaya, 2013**).

L'abondance de ces microorganismes, sont en relation étroite avec l'alimentation et n'ont aucun effet significatif sur la qualité du lait et sur sa production. Le lait dans les cellules du pis est stérile, 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 (**Ouadghiri, 2009**).

Lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, le lait contient essentiellement des germes saprophytes du pis et des canaux galactophores : *Micrococcus*, streptocoques lactiques et des *Lactobacillus*. Du fait de sa composition physico-chimique, le lait est un excellent substrat pour la croissance microbienne (**Belarbi, 2011**).

La flore naturelle du lait, au départ est le principal facteur de sa dégradation, et a été souhaitée pour ses propriétés acidifiante, protéolytique, lipolytique et aromatique (**Laithier, 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**).

2.3.2. Les microorganismes responsables 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**).

Cette microorganismes sont responsables des défauts sensoriels de gout, d'arômes, d'apparence ou de texture du produit laitier. Parfois, certains microorganismes nuisibles peuvent aussi être pathogènes (**Kabir, 2015**).

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

2.3.3. Les bactéries thermorésistantes

Les composantes de cette flore sont les *Micrococcus* et *Bacillus* dont l'espèce *B. cereus* produit une entérotoxine c'est la flore de contamination provenant le plus souvent de la machine à traire ou des tanks . *Clostridium perfringens* est l'une des causes de toxi-infection alimentaire (Djoughri et Madani, 2015).

2.3.4. Les coliformes

La présence de contamination fécale est définie par des microorganismes indicateurs, dite les coliformes. (Becila, 2009). Certains coliformes sont responsables de la production de l'acide lactique et fermentent le lactose par voie hétéro-fermentaire. De plus, ces bactéries élaborent diverses substances qui provoquent le gonflement précoce des produits laitiers dont le fromage.

Un grand nombre d'entre elles étant les hôtes habituels de l'intestin des mammifères, leur présence dans le lait tout comme dans l'eau, est l'indice d'une contamination fécale. Cet indice est mis à profit dans l'examen de la qualité des produits.

2.3.5. Bactéries psychrotrophes

Les bactéries psychrotrophes comme les *Pseudomonas* principalement et *Bacillus* peuvent produire des lipases et protéases extracellulaires. Ces enzymes peuvent provoquer des défauts de goût de rance et amertume dans les fromages (Beldjilali, 2015).

D'autres microorganismes comme *Acinetobacteres*, *Clostridium*, *Pseudomonas* et *Flavobacterium* qui se développent à une température de 3 à 7°C et de *L. monocytogenes* capable de se multiplier à une température comprise entre 0°C et 10°C.

2.3.6. Bactéries butyriques

Les bactéries butyriques telles que les *Clostridium tyrobutyricum* peuvent se développer dans les fromages et donner des défauts de goût et d'ouverture « gonflement tardif » par fermentation butyrique et production d'acide butyrique et d'hydrogène (Beuvier et Feutry, 2005).

2.3.7. Levures et moisissures

2.3.7.1. Les levures :

Certaines levures présentes dans le lait sont capables de fermenter le lactose avec production de l'éthanol. Il y a des levures qui participent à l'affinage de certains fromages et d'autres entrent dans la fabrication de certains produits laitiers fermentés. Il y a aussi dans le domaine laitier des levures nuisibles responsables de certaines dégradations détectées par des odeurs d'alcool, par un gonflement des emballages et du fromage dû à la production de gaz (Zergoune, 2015). Les

levures associées au lait sont les espèces suivantes : *Debaryomyces hansenii*, *Kluyveromyces lactis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Yarrowia lipolytica*, *Candida kefir* et *Torulopsis lactis condensis* (**Bourgeois et al, 1996**).

2.3.7.1. Les moisissures :

Sans importance dans le lait liquide, elles intéressent un grand nombre d'autres produits laitiers. Elles se développent en surface, ou dans les parties internes aérées. Elles sont productrices de lipases et de protéases, dont on rencontre le *Penicillium* et le *Geotrichum* (**Zergoune, 2015**). Les moisissures liées aux produits laitiers sont les suivantes : *Geotrichum candidum*, *Sporendonema sebi*, *Penicillium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Cladosporium herbarum*, *Scopulariopsis fusca*, *Trichoderma viride*, *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium* et *Byssoschlamys* (**Bourgeois et al, 1996**).

2.3.8. Les micro-organismes potentiellement pathogènes

Les bactéries pathogènes pour l'homme peuvent être présentes dans le lait cru, ou dans les produits laitiers qui en dérivent. Provoquer des malaises chez les personnes qui consomment ces produits (**Bourouai, 2014**). La présence des micro-organismes pathogènes dans le lait peut avoir trois sources : l'animal, l'homme et l'environnement (**Senoussi, 2013**).

La flore pathogène sont des bactéries mésophiles. 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 certaines moisissures (**Tchamba, 2007**). Leur origine est variée ; infection mammaire, matériel de traite, ensilage. Elle présente un danger pour le consommateur (**Beldjilali, 2015**).

Tableau 2. Microorganismes du lait du lait cru (Leyral et Vierling, 2001).

Flore originelle		Flore de contamination	
Bactéries des canaux galactophores	Bactéries contaminant le lait pendant et après la traite	Bactéries d'origine fécale	Bactéries présentes sur l'animal malade
Lactobacilles streptocoques lactiques	<i>Pseudomonas</i> , <i>Flavobacterium</i> Entérobactéries, Microcoques, Corynébactéries	<i>Clostridium</i> Coliformes fécaux <i>Salmonella</i> <i>Yersinia</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Brucella</i> et <i>Yersinia</i>

3. Les bactéries lactiques

3.1. Généralités sur les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des microorganismes regroupés dans un groupe hétérogène qui rassemble un certain nombre de genres se caractérisant, produise d'acide lactique, liée à un métabolisme exclusivement fermentaire. La fermentation est dite : homolactique si l'acide lactique est pratiquement le seul produit formé et hétérolactique si d'autres composés sont aussi présents, comme l'acide acétique, l'éthanol, le CO₂ (**Leveau et Bouix, 1993**).

Elles sont Gram positif, généralement immobiles, asporulées, catalase négative, oxydase négative et généralement nitrate réductase négative, elles sont aussi des bactéries anaérobies facultatives. Elles ont des exigences nutritionnelles complexes pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles (**Dellaglio et al., 1994 ; Hogg, 2008**). Les bactéries lactiques jouent un rôle significatif dans l'acidification du lait et l'affinage des fromages grâce à leurs aptitudes technologiques. Elles sont aussi impliquées dans la fermentation spontanée de beaucoup de produits alimentaires (**Stiles et Holzapfel, 1997**).

3.2. Origine et habitat

Elles sont associées aux habitats riches en nutriments, comme les plantes, ainsi que divers produits alimentaires : le lait et produits laitiers, les viandes et les boissons, mais d'autres sont aussi présents dans la flore normale de l'intestin et du vagin des mammifères (**Salminen et al., 2004 ; Carina Audisio et Maria, 2010**).

3.3-Définition et caractéristiques

Les bactéries lactiques sont des cellules procaryotes organotrophes formant un groupe hétérogène. Elles peuvent avoir différentes formes: sphériques (coques/genre *Streptococcus* et *Lactococcus*...), en bâtonnets (bacilles/genres *Lactobacillus*) ou encore ovoïdes (*Leuconostoc* spp.) (**Luquet et Corrieu, 2005; Galvez et al., 2011**). Ce sont des bactéries à Gram positif, asporulantes, aéro anaérobies facultatives ou micro-aérophiles, à métabolisme fermentaire strict, acido-tolérantes et capables de croître à des températures comprises entre 10°C et 45°C et à des pH allant de 4,0 à 4,5. Ces bactéries sont généralement immobiles et se caractérisent par la production d'acide lactique.

Elle sont aussi des exigences nutritionnelles complexes pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles (**Salminen et al., 2004; Dellaglio et al., 1994**).

3.4. Les principaux genres de bactéries lactiques du fromage

3.4.1. *Lactobacillus*

Le genre *Lactobacillus* constitue le groupe le plus large de la famille *Lactobacteriaceae*. Les lactobacilles sont des bactéries en forme de bâtonnets ou coccobacilles, souvent organisées en chaînes, préférant relativement des milieux acides (pH 5,5 à 6,5). Le grand nombre d'espèces appartenant à ce genre révèle des variations phénotypiques et génotypiques considérables trouvées dans ce groupe (**Corrieu et Luquet, 2008**).

Les lactobacilles se répartissent en trois groupes selon leur profil fermentaire, d'après la classification de Kandler et Weiss (1986) on peut distinguer:

Groupe I : il comprend les espèces homofermentaires obligatoires, c'est-à-dire produisant exclusivement de l'acide lactique à partir du glucose. Ce groupe est constitué d'espèces pour la plupart thermophiles (croissance à 45 °C) dont *Lb. delbrueckii*, *Lb. acidophilus* et *Lb. helveticus*. La plupart des espèces de ce groupe sont présentes dans le lait et les produits laitiers.

Groupe II : ce sont les espèces hétérofermentaires facultatives, c'est-à-dire capables d'utiliser la voie hétérofermentaire dans certaines conditions comme une concentration en glucose limitante. Parmi les espèces de ce groupe majoritairement mésophiles, on compte *Lb. casei*, *Lb. curvatus*, *Lb. sake* et *Lb. plantarum*.

Groupe III : il est constitué des espèces hétérofermentaires obligatoires, c'est-à-dire utilisant la voie des pentoses phosphates pour la fermentation des hexoses et des pentoses. C'est un groupe qui rassemble des espèces relativement hétérogènes, surtout mésophiles, comme *Lb. brevis*, *Lb. kefir* et *Lb. sanfransisco*.

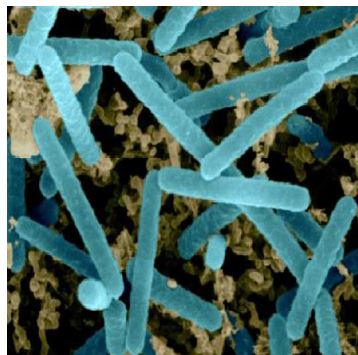


Figure1. Forme cellulaire de *Lactobacillus* (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Lacobacillus>)

3.4. 2. *Lactococcus*

Le genre *Lactococcus* comprend 5 espèces mésophiles homofermentaire : *Lactococcus garvieae*, *L. piscium*, *L. plantarum*, *L. raffinolactis* et *L. lactis* lui-même divisé en 3 sous espèces : *cremoris*, *hordniae* et *lactis* (**Corrieu et Luquet, 2008**). Quelques espèces produisent des exopolysaccharides et des bactériocines(**Tamime, 2002**).

Les lactocoques sont fréquemment retrouvés dans les laits crus, plus dans celui des chèvres et des brebis que celui des vaches, cette différence peut aller de 10 à 100 ufc/ml (**Serna et Rodriguez, 2006**). Ces bactéries sont retrouvées sous forme cocci associées par paires ou en chaînettes de longueurs variables. Elles sont thermosensibles et ne peuvent pas croître en présence de 6,5 % de NaCl ou à pH 9,6. Leur température optimale de croissance s'étend de 25 à 35 °C, respectivement pour les souches de *L. cremoris* et *L. lactis*. Les *Lactococcus* sont capables de croître à 10 °C mais pas à une température supérieure à 40 °C (**Dellaglio et al., 1994**).



Figure 2. Genre *Lactococcus* (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Lactococcus>)

3.4. 3. *Enterococcus*

Les entérocoques sont des coques qui peuvent être mobile, homofermentaire et généralement différenciés par la fermentation de l'arabinose et le sorbitol (Ho et al., 2008). Ce genre regroupe des bactéries commensales de l'intestin. L'espèce fréquemment rencontrée dans l'alimentation est essentiellement *Enterococcus faecalis*. Les entérocoques sont des bactéries ubiquistes présentes dans l'intestin de l'homme et des animaux, dans les eaux usées, dans l'eau douce, dans l'eau de mer, dans le sol et sur les végétaux. La plupart des espèces de ce genre participent à la composition des microflores intestinales (Deveriese et al., 2002). On les retrouve aussi dans le lait et les produit laitiers, les produit carnés et de la pêche. Le genre *Enterococcus* comprend des bactéries ayant une température de croissance optimale de 35°C. Elles sont capables de résister à des conditions hostiles et à un chauffage de 60°C durant 30 minutes (Foulquié-Moreno et al., 2006).



Figure 3. Genre *Enterococcus*(<http://fr.wikipedia.org/wiki/Enterococcus>)

3.4. 4. *Streptococcus*

Les streptocoques se présentent sous forme coque, formant des chaînes ou des paires (**Laurent et al., 1998**) et exprimant une résistance à haute température, et la capacité de croître à 52 °C (**Pilet, 2005**). Ce groupe comprend essentiellement des espèces d'origine humaine ou animale dont certaines sont pathogènes comme *S. pyogenes* et *S. agalactiae* d'autres sont impliquées dans la formation de la plaque dentaire (*S. mutans*). L'espèce thermophile *Streptococcus thermophilus* se différencie par son habitat le lait et produits laitiers, et son caractère non pathogène. Du fait de ses propriétés technologiques, c'est la seule espèce considérée comme un streptocoque lactique (**Laurent et al., 1998**).

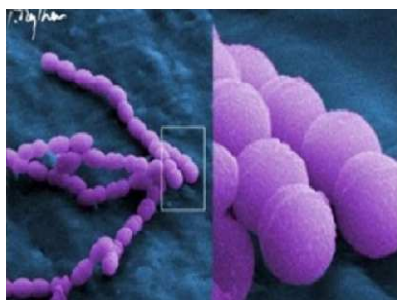


Figure 4. Genre *Streptococcus* (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Streptococcus>) .

4. Intérêt des bactéries lactiques

4.1. Application industrielle des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont utilisées sous la forme de levains artisanaux, mais le développement de l'industrie de transformation, en particulier de l'industrie laitière, a conduit à la production de ferments industriels capables d'assurer à la fois la qualité et la constance du produit (**Pfeiler et Klaenhammer, 2007**). Les technologies laitières représentent le principal secteur d'application des bactéries lactiques. Dans la fabrication fromagère, elles jouent un rôle essentiel dans les premières étapes de la transformation du lait, mais elles interviennent aussi, dans la phase d'affinage et dans la qualité des produits finis. Leur action est liée à deux aspects de leur métabolisme : la production d'acides lactiques et l'activité protéolytique (**Desmazeaud, 1998**).

4.2 - Rôle de probiotique

Leur intérêt en tant que probiotiques a été démontré par Metchnikoff et ses études sur le yoghourt. Aujourd'hui, les recherches visent à démontrer l'effet bénéfique des bactéries lactiques dans l'amélioration de la digestion du lactose, le traitement des diarrhées et la réduction du cholestérol et de tumeurs (**Drouault et Corthier, 2001**).

4.3 - Rôle d'inhibiteurs de pathogènes

Les bactéries lactiques sont capables d'inhiber une flore indésirable par la production d'agents antibactériens tels les bactériocines (**Labioui et al., 2005**). Certaines *Lactobacillus ssp* ou de *Leuconostoc mesenteroides* sont capables d'inhiber la croissance de *Listeria monocytogenes* (**Ratti et al., 2010, Pérez Ibarreche et al., 2014, Retureau et al., 2010**).

5-Métabolisme des bactéries lactiques

5-1-La glycolyse

Les bactéries lactiques synthétisent leur ATP grâce à la fermentation lactique des glucides. On les distingue en deux groupes biochimiques : les homofermentaires et les hétéro fermentaires. Les homofermentaires produisent deux molécules d'acide lactique par glucose consommé. Chez les hétéro fermentaires, seule une molécule d'acide lactique est produite à partir du glucose. Une autre molécule est produite en général soit de l'éthanol soit de l'acide acétique et une molécule d'oxygène. La différence entre ces deux groupes est le dégagement de CO₂ (**BOURGEOIS et al., 1996**).

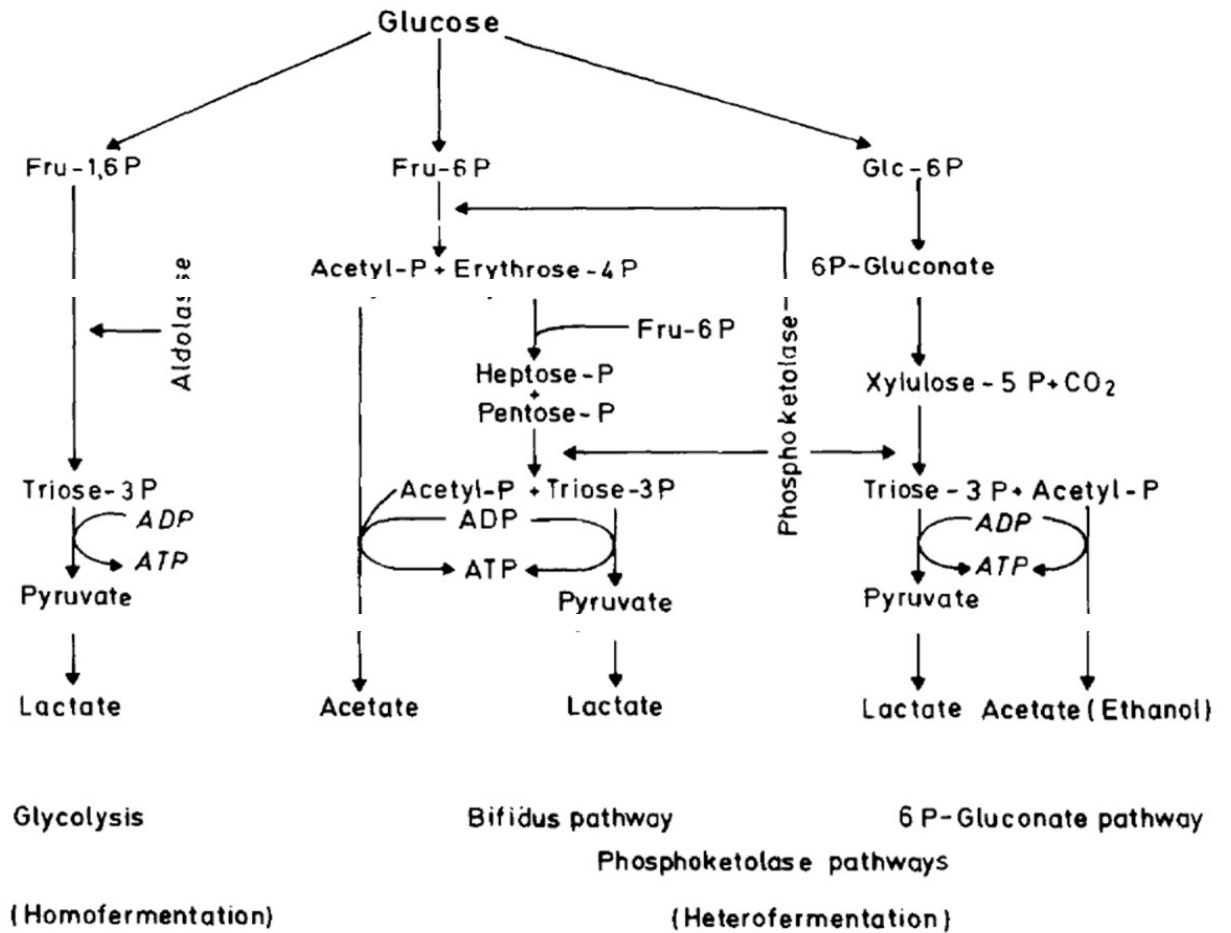


Figure 5. Principales voies assurant le transport et le métabolisme du glucose par les bactéries lactiques (Kandler, 1983)

5-2- La protéolyse

L'incapacité des bactéries lactiques à synthétiser les acides aminés nécessaires à la synthèse protéique nécessite un fonctionnement actif de leur système protéolytique dans les environnements où les protéines constituent la principale source d'azote (**Law et Haandrikman, 1997**). Le système protéolytique des bactéries lactiques est composé de protéases associées à la paroi cellulaire, qui catalysent l'hydrolyse des protéines en peptides contenant de 7 à 16 résidus aminés .

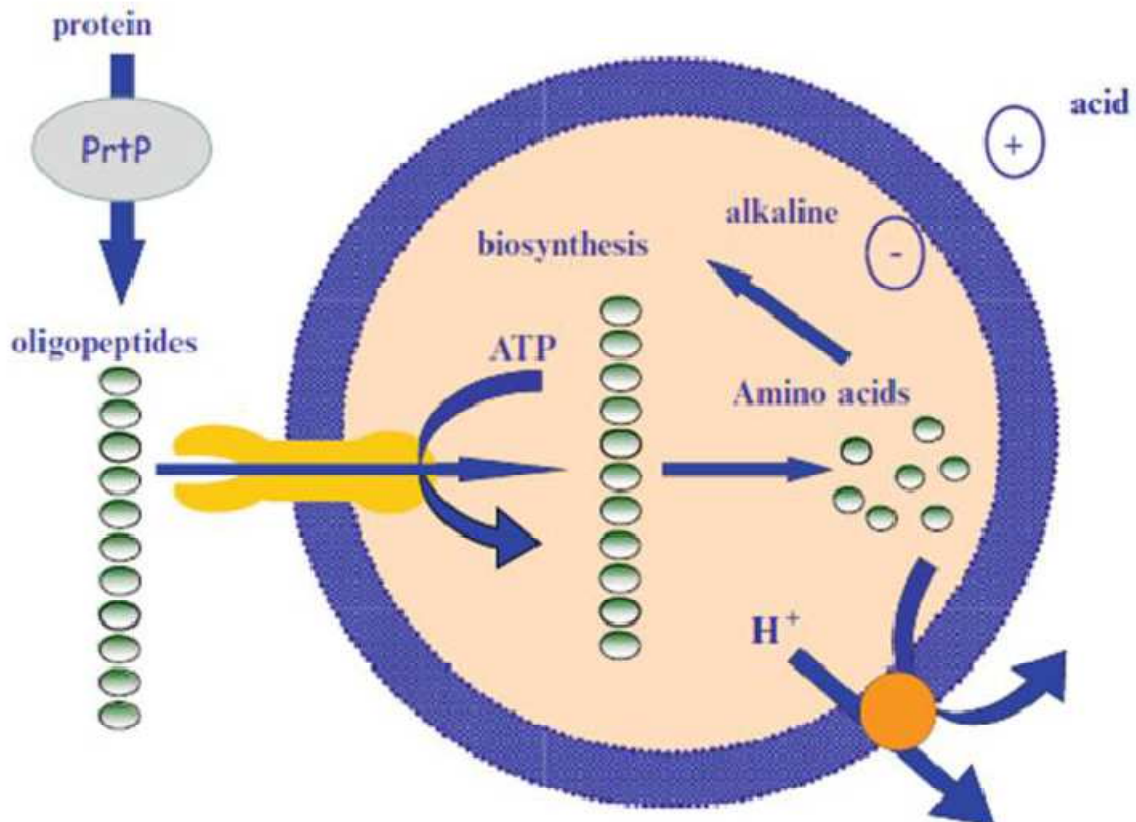


Figure 6. Système protéolytique des bactéries lactiques (KUNJI *et al.*, 1996).

6. Le fromage frais :

6.1. Définition du fromage

Selon le *Codex alimentaires*, le fromage est le produit solide ou semi-solide, frais ou affiné, dont le ratio lactosérum/caséine n'est pas supérieur à celui du lait (**Belbeldi, 2013**). Les fromages frais sont des fromages à égouttage lent, n'ayant subi que la fermentation lactique obtenue avec des laits propres à la consommation humaine (**Mehnoune et Ferhoul, 2015**).

6.2. Technologie des fromages

Tous les ferments artisanaux disponibles actuellement sont dérivés des starters artisanaux de composition non définie contenant un mélange de différents souches et/ou espèces. La production de telles cultures, aussi définies comme « ferments naturels » et/ou par l'application de pression sélective (traitement thermique, la température d'incubation, baisse de pH) (**Leksir, 2012**).

La transformation du lait en fromage comporte trois étapes principales, la coagulation, l'égouttage et l'affinage.

La qualité de lait de fromage frais est fonction de son aptitude à donner un bon fromage, dans des conditions normal, avec un rendement satisfaisant. Elle dépend d'un certain nombre de caractéristiques du produit tels que sa composition chimiques, sa richesse en caséines, sa charge microbien et la nature de sa microflore, son aptitude au développement des BL (**Abakar, 2012**).

6.2.1. La coagulation

C'est une modification physico-chimique des micelles de caséines, entraînant la transformation du lait en gel. Elle est liée étroitement à la déstabilisation structurale de la micelle de caséine (**Bouadjaib, 2013**). La coagulation peut être obtenue par abaissement du pH (acidification), par action des enzymes coagulantes ou par action mixte (**Talantikite, 2015**).

6.2.2. L'Acidification lactique du lait ou l'addition d'acide

Selon **Mahaut et al. (2000)**, la coagulation par voie acide consiste à précipiter les caséines à leur point isoélectrique (pHi = 4,6) par acidification du lait :

- biologique par des ferments lactiques qui transforment le lactose en acide lactique, ou
- par acidification chimique ou par ajout de protéines sériques à pH acide.

6.2.3. La coagulation par la présure ou une autre protéase coagulante

La présure est l'enzyme coagulante la mieux connue ; c'est un mélange de chymosine et de pepsine secrété dans la caillette des jeunes ruminants nourris au lait (**Belbeldi, 2013**). On peut la remplacer par des enzymes d'origines fongiques (*Mucor*) (**Oumai, 2014**). Cette enzyme catalysant l'hydrolyse de la caséine K en deux fragments : un fragment hydrophile qui passe dans le lactosérum et un fragment hydrophobe. Les fragments hydrophobes s'unissent pour former un gel. Son mécanisme d'action est comporte deux phases primaires (enzymatiques) où la présure attaque la liaison de la caséine-κ en libérant un peptide et par conséquent, la déstabilisation de la micelle de caséine (**Elisabeth, 2008**).

La phase secondaire (coagulation), où les micelles modifiées s'associent entre elles en présence de calcium pour former un gel souple élastique, cohérent, imperméable et contractile (**Belbeldi, 2013**).

6.2.4. LA coagulation par les extraits de plantes

La coagulation du lait peut venir de pratiques que l'on retrouve dans le monde entier, par l'emploi, non pas d'acide lactique ou d'enzymes animales, mais d'extraits végétaux. Il existe, dans divers pays, des plantes susceptibles de fournir des enzymes ayant la propriété de coaguler le lait. D'une façon générale, ces diverses préparations végétales ont donné des résultats assez décevants en fromagerie car elles possèdent le plus souvent une activité protéolytique très élevée et produisent des fromages amers.

En Algérie l'utilisation des fleurs du chardon, de l'extrait de l'artichaut des graines de citrouille, ou de la sève du figuier sont des pratiques connues pour la production du Jben traditionnelle (Lahssaoui, 2009).



Figure 7. Fleur du cardon (www.blogs.afrique.info)

6.2.5. La coagulation mixte

Résulte de l'action de la présure et de l'acidification (Romain *et al*, 2008). La multitude de combinaisons conduisant à différents états d'équilibre spécifique est à cause de la grande diversité des fromages à pâtes pressée non cuite (Talantikite, 2015).

6.2.6. L'égouttage

L'égouttage est une étape de concentration de certains constituants du gel par un phénomène physique de rétraction et l'évacuation passive du lactosérum liée à la porosité et la perméabilité du gel sous l'effet conjugué de la présure, de l'acidité et de la température, les liaisons moléculaires qui se créent entre les caséines et les minéraux provoquent une contraction du réseau qui expulse l'eau et les solutés : protéines sériques, minéraux solubles, lactose, composés azotés non protéiques (Benderouiche, 2009).

6.2.5. 1. Les différentes étapes de l'égouttage

1. Le tranchage :

Il consiste à couper le coagulum en portions égales afin de favoriser la surface de suintement, de favoriser l'écoulement du lactosérum et de faciliter l'égouttage (**Oumai, 2014**). C'est-à-dire la séparation du caillé et de la majeure partie de lactosérum l'acidité lactique favorise cet égouttage (**Ben Moussa et al, 2012**).

2. Le brassage :

Il consiste à agiter les grains de caillé obtenus après tranchage. Les gels obtenus par coagulation acide ou mixte le font rarement, donc le brassage n'est pas obligé. Mais pour les gels obtenus par voie enzymatique, le brassage doit être réalisé de manière continue.

1. Le chauffage :

la température accroît fortement l'égouttage et le froid le réduit. La température est entre 20° et 55°C.

2. Le pressage :

le but du pressage est d'évacuer les dernières portions de lactosérum dans la masse des grains de caillé et de donner au fromage sa forme définitive.

3. Salage :

le but de cette phase est enrichir la pâte fromagère en chlorure de sodium. Par, plusieurs techniques soit l'incorporation de sel par dépôt en surface ou dans la masse, ou par immersion en saumure (**Bouadjaib, 2013**). Le salage assure un complément d'égouttage, peut contribuer à la formation de la croûte. Il assure aussi, une sélection de la flore du fromage (**Miszczycha Dimitri, 2013**). **Guiraud, 2012**).

6. L'affinage

C'est le procédé d'affinage qui confère aux fromages leurs caractéristiques. Ce procédé nécessite un contrôle très précis du niveau d'humidité, de la température et des niveaux d'oxygène de façon à amener le fromage à maturité (**Oumai, 2014**). Durant l'affinage, il y a dégradation poussée de la caséine mais aussi des matières grasses (**Guiraud, 2012**).

7. Les fromages traditionnels en Algérie type J'ben

7. 1. Le J'ben

Le J'ben est le fromage frais connu et consommé en Algérie en milieu rural qu'en milieu urbain. Ce fromage est le produit d'une transformation des laits, et d'une fermentation par une flore lactique indigène (**Nouani et al., 2009**). Ce fromage est généralement obtenu par macération

ce certaines plantes fleurs de chardon ; *Cynara cardunculus L*, *Cynara scolymus* dans le lait de vache ou de brebis pour assurer la coagulation ou par ajout de caillette séchée de jeunes ruminants au lait, et l'égouttage se fait dans une mousseline pendant 2 à 3 jours suivant la saison. le coagulum obtenu après cette opération représente le j'ben (**Ouadghiri et al., 2005**).

La coagulation est précédée par une étape d'acidification spontanée du lait cru de brebis ou de chèvre, à température ambiante, pendant 24 à 72 heures selon la température, comme celle conduisant au Rayeb. Aussi, la coagulation peut être obtenue par une plante épineuse sauvage (*Cynara humilis*) ou l'artichaut (*Cynarascolumus*), ou du latex de figuier (*Ficus carica*) ou des graines de citrouille (**Nouani et al., 2009**).

7.2. Caractéristiques physico-chimiques du J'ben

Le fromage frais « j'ben » ne présente pas de caractéristiques définie à causes 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 qui à son tour dépend de la trace 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 variable du « j'ben ». cependant, les matières solides totales du « j'ben » 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 (**Benkerroum et Tamime., 2004**). De nos jours, le jben est également préparé à partir du lait pasteurisé. Les caractéristiques finales d'un j'ben typique sont variables et affectées par la préparation du fromage (**Ouadghiri et al., 2005**).

Tableau 3. Paramètres physico-chimiques du Jben (**Guétouache et al., 2015**).

pH	Acidité D°	Matière sèche	Matière grasse	Teneur en protéines	NaCl	Lactose	Cendres
4.42	79.4	55.8 (g/ml)	16.83 (%)	*15.8 (%)	*0.5 (g/100g)	4.1 (g/100g)	28 (g)

*(**Benkerroum et Tamime, 2004**).

7.3. La microflore du Jben

La microflore du J'ben est dominée par les bactéries lactiques (10^8 à 10^9 ufc.g-1). Parmi elles il y a *Lactococcus lactis biovar et diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroide lactis*, *Lactobacillus plantarum* et *brevis*, des *Enterococcus casei*. Les levures et moisissures qui représentent plus de 10^6 cfu g-1, et bien qu'elle ne représente aucun risque sur la qualité hygiénique du produit ; une teneur élevée est la cause des différentes altérations du fromage (**Benkerroum et Tammime, 2004**).

8. Les étapes de fabrication du fromage frais type J'ben

Le processus de fabrication nécessite trois grandes étapes essentielles la maturation, la coagulation et l'égouttage (**Randazzo et al, 2002**). Ce type de fromage est généralement fabriqué soit à partir du lait de vache ou du lait de chèvre. Les étapes de fabrications peuvent être résumées comme suit

8.1. 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.

8.2. La coagulation:

L'activité coagulante est déterminée par la force de présure (emprésurage), la température du lait et son acidité. Après l'emprésurage, le lait est abandonné au repos à température ambiante pendant 6 à 10 heures. Il va prendre en masse (caillage) avec une consistance plus ou moins ferme selon le degré d'acidité développé. Le coagulum est obtenu par deux modes de coagulation : la coagulation dite lactique et celle engendrée par l'action de la présure.

8.3. L'égouttage

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. L'égouttage 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**).

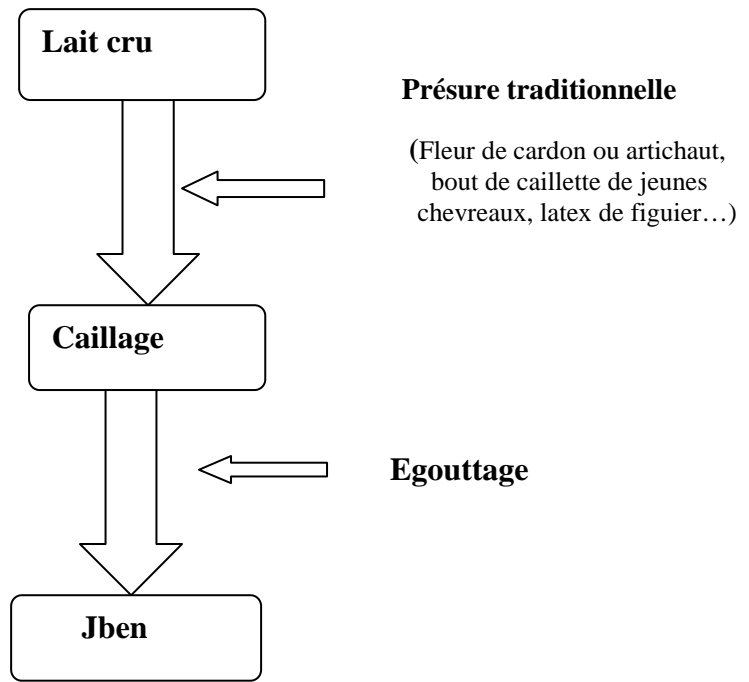


Figure 8. Schéma des méthodes de préparation de jben

Partie

Matériel et méthode

I.Méthodologie envisagée pour la réalisation de l'objectif tracé dans ce mémoire.

Vu la crise sanitaire qui a touchée notre pays par l'apparition du COVID-19 l'ensemble des travaux au niveau de laboratoire ont été suspendus. Nous résumons l'ensemble des méthodes prévues sous forme d'une partie théorique.

1. Méthodologie

Un prélèvement des échantillons ont été réalisé sur le fromage frais type J'ben.

Les analyses envisagées d'être réalisé dans ce mémoire portent sur l'isolement et caractérisation par des méthodes phénotypiques et biochimiques de bactéries lactiques, se résumant comme suit :

1. Les méthodes phénotypiques tracées s'articule autour de l'étude de l'aspect macroscopique et microscopique des souches
2. Les méthodes physiologiques tracées portent sur l'étude de production de l'enzyme catalase et production de CO₂ à partir du glucose des souches.
3. Enfin, nous avons envisagé de réaliser une identification des souches par l'utilisation des caractères biochimiques soit classique soit par l'utilisation de galerie API système.

II. Matériel et méthode

1. Echantillonnage et prélèvement d'échantillons

1.1. Méthodes d'échantillons du fromage (J'ben)

Les échantillons de fromage frais traditionnel (Jben) ont été collectés dans la région d'El-Bayadh. Les échantillons ont été récupérés dans des bouteilles en verre stériles. Trois échantillons de 300 gr ont été prélevés et gardés à 4°C pour analyse au niveau du laboratoire.

1.2. Lieu de prélèvement

Les échantillons de « jben » collectés au niveau de la wilaya d'El Bayedh. Le fromage prélevé a été fabriqué avec du lait cru de chèvre selon les étapes détaillés dans la partie bibliographique



Figure 09 : Présentation du fromage(djben).

2. Les méthodes phénotypiques tracées s'articule autour de l'étude de l'aspect macroscopique et microscopique des souches.

2.1 .Les méthodes phénotypiques

2.1.1. Isolement des souches

Pour effectuer l'isolement des souches à partir des échantillons fromage ; le milieu qui doit être utilisé est le milieu MRS pour l'isolement de lactobacilles et le milieu M17 pour l'isolement des coques Gram positif à savoir les *Streptococcus* et les *Enterococcus*.

La méthode peut être réalisée de la manière suivante :

➤ Principe de la méthode

L'isolement est technique qui permet de séparer les bactéries d'un échantillon. L'isolement permet d'obtenir des colonies différentes espacées les unes des autres, On cherche à isoler les différents microorganismes présents dans l'échantillon analysé, chaque cellule isolée étant alors potentiellement susceptible de produire une colonie.

➤ Isolement sur milieu MRS ou M17

Une goutte peut être prélevée de la solution mère et ensemencé par étalement sur gélose MRS ou M17, puis les boîtes sont incubées pendant 48h à 30°C .

2.1.2. Purification des souches

La purification est le fait de séparer, plus ou moins efficacement les substances voulues de reste des molécules présentes dans l'échantillon, on devrait pouvoir isoler n'importe quelle molécule de reste du mélange

Mode opératoire

Pour la purification des souches, une succession d'ensemencements en stries sur gélose MRS ou M17 par la méthode des stries et l'incubation est réalisée à 30°C pendant 48h.

3. Etude Macroscopique et Microscopique

3.1. Etude macroscopique

L'examen macroscopique sur milieu MRS ou M17, peut donner la présence des colonies de tailles et de couleur différentes, de forme et de contour avec un diamètre. Selon l'aspect de chaque colonie ou isolat, on peut déterminer le caractère macroscopique de chaque isolat et ce caractère peut être considéré comme un premier critère d'orientation pour l'identification de la souche présente dans le produit étudié .

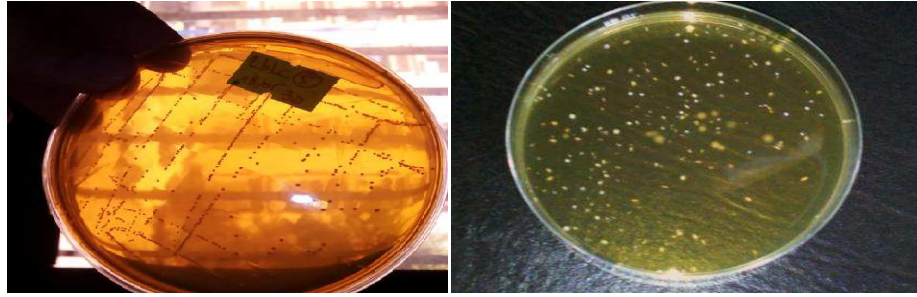


Figure 10 : spect macroscopique des isolats bacilles sur gélose MRS.



Figure 11. Aspect macroscopique des isolats sur milieu MRS (A) et M17 (B)

3.2. Etude microscopique

3.2.1. La méthode de coloration de Bleu de méthylène

➤ Principe

La coloration au bleu de méthylène (BM) est une coloration simple qui permet d'observer les bactéries, les champignons, mais aussi les cellules qui sont en général mieux conservées qu'avec la coloration de Gram. Elle permet de renseigner sur :

- la forme des bactéries
- la taille
- le mode de regroupement

➤ Matériel

Eau déminéralisée dans un petit bécher, compte-gouttes, bec Bunsen, pissette (eau pure).

Lames dégraissées, lames à étalement, cuve à coloration, bleu de méthylène, öse bouclée.

Tubes avec bouillon nutritif de la séance précédente.

Microscopes avec dispositifs à immersion.

➤ OBSERVATION DE LA LAME COLORÉE

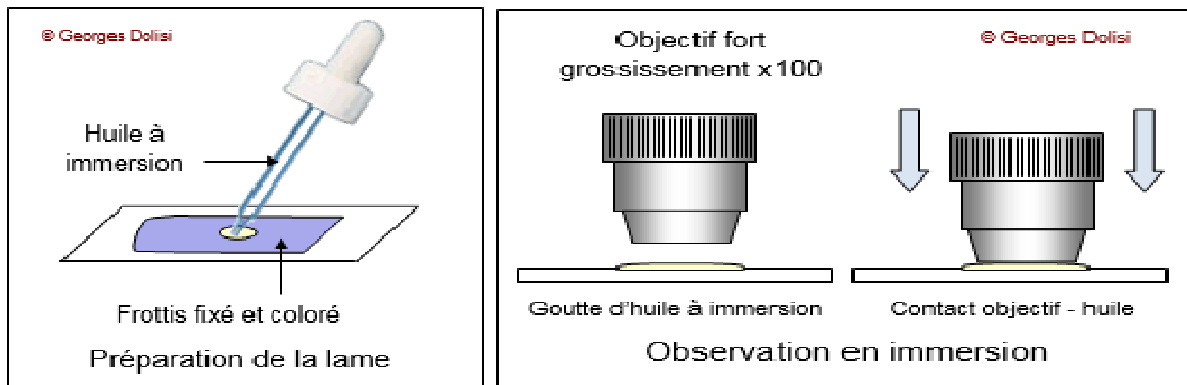


Figure 12 : Observation de la lame colorée.

➤ Technique

- Réaliser un frottis et le fixer.
- Recouvrir la lame de bleu de méthylène phéniqué, 1 à 2 minutes.
- Rincer à l'eau distillée.
- Sécher la lame entre 2 feuilles de papier Joseph.
- Observer à l'objectif x100 à l'immersion dans l'huile et à pleine lumière.



Figure 13. Lactobacilles et streptocoques colorés au bleu de méthylène.

1 - **Les bacilles** : ce sont des bactéries en forme de bâtonnets, isolées ou attachées en file. Il s'agit de *Lactobacillus*. Elles sont immobiles car elles ne possèdent pas de cils (contrairement au bacille subtil).

2 - **Les streptocoques** : il s'agit cette fois de bacilles en forme de petites boules (= coques) reliées en chaînettes plus ou moins longues (= streptocoques).

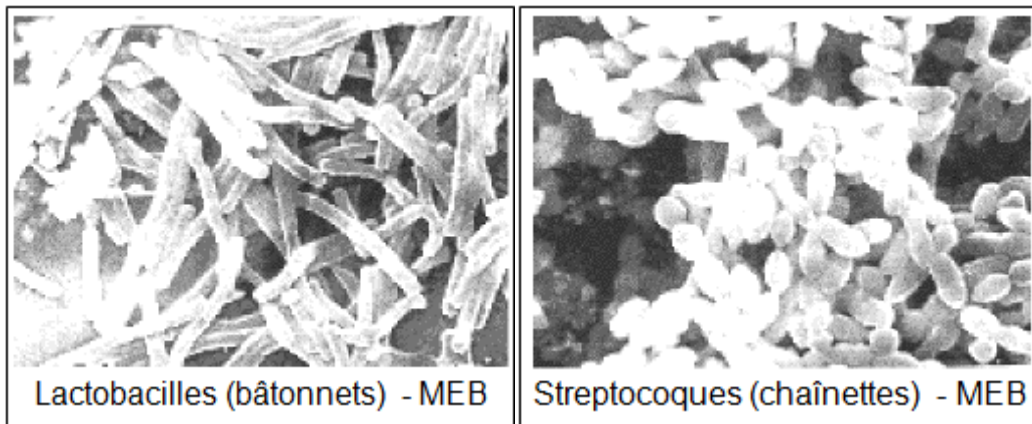


Figure 14. *Lactobacilles et Streptocoques.*

❖ Préparation des frottis

Le frottis destiné à la coloration doit être étalé en couche mince et régulière, séché et le plus souvent fixé.

➤ Étalement

Les lames utilisées doivent être parfaitement propres et dégraissées. La technique de prélèvement est celle décrite à propos des examens à l'état frais. Étaler donc la goutte de culture ou de suspension bactérienne en un film mince et régulier. L'étalement est effectué, de préférence, par un mouvement circulaire régulier à l'aide de l'anse platine.

➤ Séchage

Il doit se faire autant que possible à la température du laboratoire. Il est très rapide si la lame est parfaitement dégraissée et le frottis mince et régulier. Le frottis peut, éventuellement, être séché en chaleur douce :

En posant la lame sur une platine chauffante réglée à 37°C, ou en maintenant la préparation dans l'air chaud au dessus de la flamme de la veilleuse d'un bec Bunsen.

La mauvaise qualité d'une préparation provient souvent d'un séchage trop brutal qui a altéré certains constituants de la bactérie (en particulier la paroi).

➤ Fixation

Elle consiste à tuer les bactéries et à les « fixer » sur la lame, sans en altérer la structure. Plusieurs méthodes peuvent être utilisées, exemple :

➤ Fixation par la chaleur

La lame tenue par une pince, frottis situé sur le dessus, est passée dans une flamme chauffante. Le geste doit être lent et la lame doit écraser 3 à 4 fois la flamme. Il convient d'attendre le refroidissement de la lame avant d'entreprendre toute coloration. Ce procédé est rapide mais brutal, des altérations bactériennes sont possibles.

➤ Fixation par l'alcool flambé

Ce mode de fixation est le plus utilisé mais doit être réservé aux cultures bactériennes. Il consiste à mettre sur la lame quelques gouttes d'alcool à 95° et enflammer après quelques secondes de contact. Il est prudent de mettre au préalable de l'eau au fond de la cuve à coloration au dessus de laquelle sont placées les lames et de rejeter une partie de l'alcool (s'il y en a en excès) avant le flambage. Il faut attendre le refroidissement de lame avant de commencer toute coloration.

➤ Observation microscopique à l'état frais

Au cours de la réalisation du test, la technique d'observation microscopique à l'état frais avait montré son importance comme étant une technique rapide dans la détermination de la forme morphologique de nos isolats lactiques.

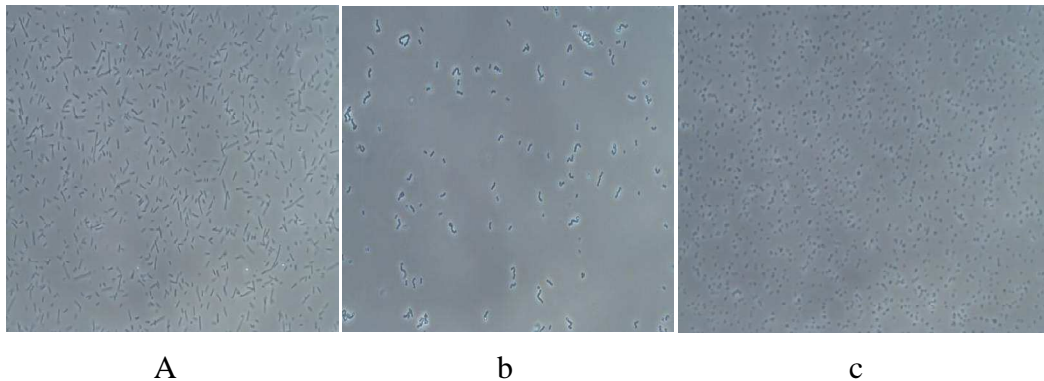


Figure 15. Observation microscopique des isolats lactiques à l'état frais **(a)** : bacilles **(b)** ovoïdes **(c)** Coques.

3.2.2 La coloration de Gram :

➤ Principe

La coloration de Gram permet de distinguer les bactéries à Gram négatif qui apparaissent roses et les bactéries à Gram positif qui apparaissent violettes. Cette différence de coloration est liée à des différences de nature de la paroi bactérienne. Elle permet de renseigner sur :

- Le type Gram + ou Gram -
- la forme des bactéries
- la taille
- le mode de regroupement

➤ Technique

- Réaliser un frottis et le fixer.
- Plonger la lame dans le violet de gentiane (ou cristal violet) phéniqué pendant 1 minute.
- laver la lame à l'eau distillée.
- plonger la lame dans une solution de lugol pendant 1 minute
- Laver à l'eau distillée
- Décolorer dix secondes à l'alcool.
- Rincer immédiatement à l'eau distillée
- plonger la lame dans la safranine (ou la fuchsine) phéniquée pendant 1 minute
- laver la lame à l'eau distillée.
- Sécher la lame en la tamponnant avec du papier Joseph.
- Observer à l'objectif x100 à l'immersion dans l'huile et à pleine lumière.

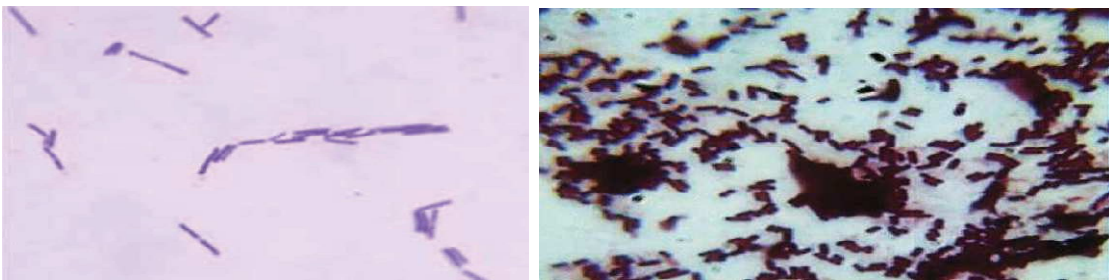


Figure 16. Aspect microscopique après coloration de Gram de des lactobacilles (grossissement X100)

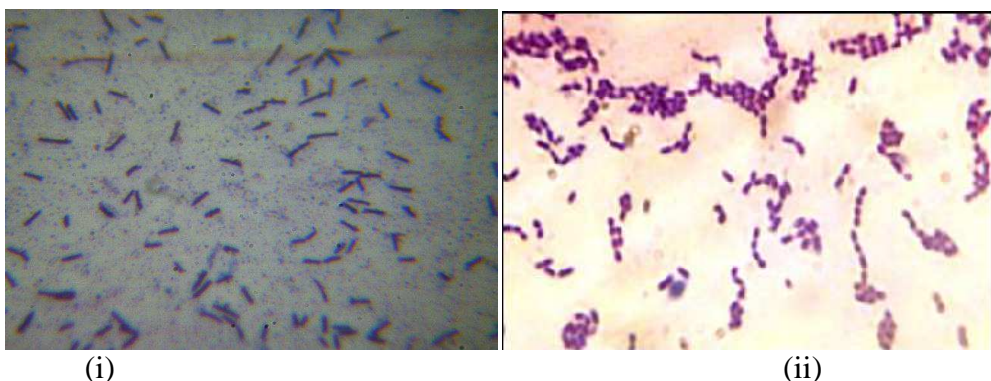


Figure 17. Observation microscopiques (Objectif X100) des isolats lactiques avec coloration de Gram ((i) Lactobacilles, (ii) Enterocoques.

➤ **Résultat et Interprétation**

Les parois des bactéries Gram- ont une teneur élevée en lipides, alors que celles des Gram+ ne contiennent pas de lipides. Les lipides sont facilement dissous par l'alcool ou l'acétone. La réaction se résume de la manière suivante :

Les cellules Gram+ et Gram- absorbent le colorant primaire (violet). L'iode (Iugol) en solution pénètre dans les deux types de cellules et forme un précipité avec le colorant. L'alcool passe facilement dans les cellules gram- à travers la paroi cellulaire, dissout le complexe colorant-iodé, l'élimine et laisse la cellule incolore. Dans les cellules Gram+, l'alcool pénètre difficilement, la dissolution du complexe colorant-iodé est lente et son élimination encore plus lente. La plus grande partie du complexe reste dans la cellule qui garde sa coloration initiale.

4. Méthode de dénombrement

4.1. La méthode de dénombrement de la flore mésophile totale

➤ **Principe :**

La flore mésophile aérobie totale (FMAT).

Cette flore indique le degré de contamination bactérienne globale des viandes (**Roberts, 1980**) et est utilisée comme méthode de contrôle de la qualité hygiénique.

4.2. Méthodes de dénombrement du coliforme et coliforme fécaux

➤ **Principe :**

Utilisé comme un indicateur de la présence possible de microorganisme pathogène (La présence des coliformes fécaux est comme un indice de contamination fécale .

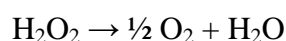
5. Test physiologique

5.1. Le test de Catalase

La recherche de la catalase présente un intérêt taxonomique en ce qui concerne les bactéries à Gram +.

➤ **Principe**

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) . Le test consiste à mettre des bactéries en quantité suffisante en contact de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Si elles possèdent la catalase, elles dégradent le peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène visible par la formation de bulles.



➤ **Technique**

- Déposer sur une lame **une goutte d'eau oxygénée** (= peroxyde d'hydrogène) à l'aide d'une pipette Pasteur ,
- Prélever une colonie à l'aide de l'anse de platine stérile ;
- Dissocier la colonie dans la goutte d'eau oxygénée (H₂O₂)

6. Température de croissance

Ce test est important car il permet de distinguer les bactéries lactiques mésophiles des bactéries lactiques thermophiles (**Leveau et al, 1991**). Les tubes sont examinés au bout d'un délai de 24 heures, la croissance est appréciée par l'apparition de trouble.

✓ **Test de croissance à 15°C et à 45°C**

La capacité des souches à croître à 15°C et à 45°C est évaluée en ensemençant des tubes de contenant le milieu MRS et M17 par la souche étudiée. Les tubes sont ensuite incubés à 15 et 45°C pendant 24 à 48 heures (**Carr et al., 2002**).

Un test est positif s'il y a un trouble ou croissance dans le milieu ou le tube incubé.

6.1. Croissance en présence de différentes concentrations de NaCl

➤ **Principe**

Pour tester la tolérance des bactéries au sel sur bouillon MRS ou M17 additionné d' NaCl

❖ **Croissance en présence de diverses concentrations de NaCl**

Ce test permet de distinguer les espèces sensibles aux variations de la pression osmotiques. Il permet de différencier les entérocoques des lactocoques et des leuconostocs.

On ensemence un milieu MRS et M17 est additionné de 4% et 6,5% de NaCl. Les tubes sont incubés à 30°C pendant 24 à 48h. , nous examinons l'apparition des troubles ou croissance indique que la souche a la capacité à résisté à une telle concentration de NaCl.

6.2. La Croissance à pH 4 et 6,5

➤ **Principe**

Pour tester la tolérance des bactéries au milieu acide sur bouillon MRS à pH 4 et 6,5 . La croissance à différents pH (4, 6.5) se traduit par un trouble bactérien visible à l'œil nu.

6.3. Test du type fermentaire production de CO₂ à partir du glucose

➤ **Principe :**

Ce test permet de savoir le type du métabolisme homo-fermentaire ou hétéro-fermentaire par lequel le substrat carboné est transformé, et la production de gaz à partir la dégradation de glucose.

➤ **Mode opératoire**

Un tube contenant le bouillions MRS ou M17 contient le glucose comme source de carbone et une cloche de durham est inoculé avec la souche à étudier après incubation de 24h à 30°C, la présence de gaz dans la cloche indique un métabolisme hétéro-fermentaires alors que leur absence indique les bactéries homo-fermentaires

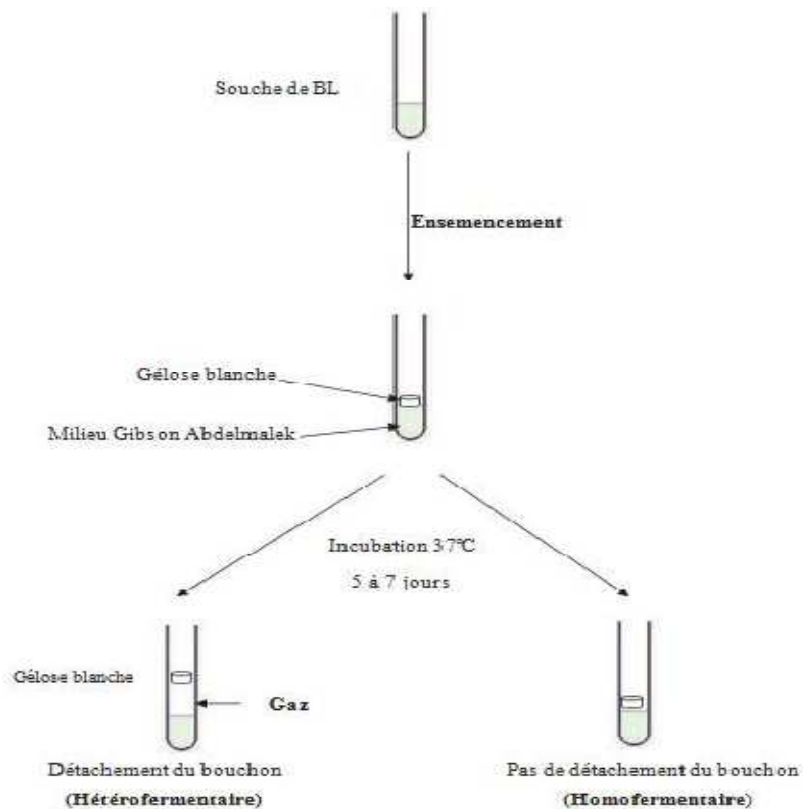


Figure 19. Différentes étapes de la mise en évidence du type fermentaire des bactéries lactiques

7. Test biochimiques

7.1. La méthode API 20 strép (pour *Streptococcus* et *Enterococcus*)

➤ **Principe**

API20 strep est un système standardisé associant 20 tests biochimiques qui présentent un grand pouvoir discriminant. Ce test permet de faire un diagnostic de groupe ou d'espèce pour la plupart des streptocoques, entérocoques et pour les germes apparentés les plus courants.

➤ **Identification par la galerie Api 20 Strep:**

Les galeries Api 20 Strep permettent une identification des bactéries lactiques au niveau de l'espèce et même parfois sur la base de la fermentation des sucres différents. La galerie Api 20 Strep est constituée de 20 micro-tubes permettant l'étude de la fermentation de substrat.,

7.2. La méthode API 50 CHL (pour *Lactobacillus*)

La galerie API50 CHL destiné à l'identification du genre lactobacilles est prêt à l'emploi et permet l'étude de la fermentation des 49 sucres de la galerie API 50 CH

➤ **Principe :**

Le microorganisme à tester est en suspension dans le milieu puis inoculé dans chaque tube de la galerie. Pendant l'incubation, le catabolisme des glucides conduit à des acides organiques qui provoquent le virage de l'indicateur de pH. Les résultats obtenus constituent le profil biochimique permettant l'identification des micro-organismes à l'aide du logiciel d'identification.

Extemporaneément.

➤ **Résultat et interprétation :**

La lecture des galeries est réalisée à des temps d'incubation définis, dépendant du microorganisme et du type de réaction étudiée.

Conclusion

Conclusion

Les bactéries lactiques sont les microorganismes dominants retrouvés au cours de la fermentation de la majeure partie des aliments, ou principalement dans les produits laitiers. Leurs principales fonctions comprennent la production d'acides organiques, et de composés aromatiques ainsi que d'autres effets tels que la stimulation des levures, l'inhibition des microorganismes pathogènes, l'amélioration de la qualité nutritionnelle, les propriétés probiotiques, l'élaboration de la texture de l'aliment et la dégradation des composés toxiques. L'objectif prévu dans ce mémoire porté sur l'étude de la biodiversité du fromage traditionnel fabriqué localement. Vu la crise sanitaire qui a touché notre pays par l'apparition du COVID-19, l'ensemble des travaux que nous avons planifiés au niveau du laboratoire pour la réalisation des objectifs tracés ont été suspendus. Notre mémoire a été rédigé sous forme de deux parties théoriques. La première partie sur une synthèse bibliographique détaillée du fromage et les différents types de fromage traditionnel fabriqué au niveau national, les propriétés technologiques, nutritionnelles et organoléptiques ont été également développées. Les méthodes envisagées d'être réalisées dans ce mémoire pour l'isolement et l'identification et la caractérisation des souches ont été aussi présentées dans la partie matérielle et méthodes sous forme d'une synthèse bibliographique. Enfin, une conclusion a été rédigée à la fin de ce mémoire.

Référence bibliographique

A

Abakar M. 2012. Essai de fabrication d'un fromage frais traditionnel sénégalais à partir du lait de vache coagulé par la papaïne naturelle. Mémoire de master. Université Cheikh ANTA DIOP de Dakar Ecole inter-états des sciences et médecine Vétérinaires de Dakar (EISMV).

Abid Z. 2015. Étude de l'activité antimicrobienne des souches de bactéries lactiques isolées d'un produit laitier traditionnel Algérien «Jben ». Mémoire de master. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen

ALAIS C., 1984. Science du lait. *Sépaic*, Paris.

B

Becila A. 2009. Préventions Des Altérations et Des Contaminations Microbiennes des Aliments. Mémoire du diplôme de post graduation. Université Mentouri Constantine. Pp 30-33.

Belbeldi A. 2013. Contribution à la caractérisation du fromage *Bouhezza* : Contenu lipidique et vitamines. Mémoire de magister. Université Constantine.

Benderouich B. 2009. La *Kemaria*: un produit du terroir à valoriser. Mémoire d'Ingénieur d'Etat en Sciences Agronomiques. Université Kasdi Merbah. Ouargla.

Bendimerad N. 2013. Caractérisation phénotypique technologique et moléculaire d'isolats de bactéries lactiques de laits crus recueillis dans les régions de l'Ouest Algérien essai de fabrication de fromage frais type « *Jben* ». Thèse doctorat. Université de Tlemcen.

Benkerroum, N. and Tamime, A.Y. (2004). Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben, smen) to small industrial scale. *Food Microbiol.*

Ben Moussa A., Chalaoui A., Rour E.H., Chahboune M.1., Aboulkasma A., 2012.

Étude Du Changement De L'état Des Eaux De L'oued Khoumane A La Confluence Avec Les Eaux Thermales De La Source Ain Hamma. Université Moulay Ismail Moulay Idriss Maroc n° 11.

Beuvier E. Feutry F. 2005. Bases microbiologie. Quelques bases sur la microbiologie du lait et du fromage. Pp 05.

Bouadjaib S. 2013. Etude physico chimique du produit laitier traditionnel du Sud algérien «*Jben*» recherche du pouvoir antimicrobien des bactéries lactiques. Mémoire Master. Université de Tlemcen. P 80.

Bouchakour E.K. Djaghlali S. 2015. Etude comparative entre trois types de lait de vache (Lait entier, lait demi – écrémé et le lait écrémé) pasteurisé. Mémoire de master. Université Djilali bounaama.

Bouraoui A. 2014. Intérêt de fabrication de fromage analogue. Mémoire master. Institut supérieur de biotechnologie de Monastir en Tunisie

Bourgeois, C. M., Larpent, J.P. (1996). Aliments fermentés et fermentation alimentaire, Microbiologie alimentaires. Tome 2. Ed © Technique Documentation Lavoisier, Paris.

Bezzalla F. Gouttaya A. 2013. Etude de la qualité microbiologique du lait camelin collecté localement en mi- lactation. Mémoire de magister. Université Kasdi Merbah Ouargla.

C

Càlix-Lara T.F., Rajendran M., Talcott S.T., Smith S.B., Miller R.K., Castillo A., Sturino J.M. et Taylor T.M., 2014. Inhibition of *Escherichia coli* O157 :H7 and *Salmonella enterica* on spinach and identification of antimicrobial substances produced by a commercial lactic acid Bacteria Food safety intervention. *Food Microbiology*.2014.38.192-200

Carr, F. J., Chill, D. Et Maida, N. (2002). The lactic acid bacteria: A literature survey Critical Rev. Microbiol. 28: 281-370.

Claps, S., Morone, G. 2011. Produits laitiers et fromagers traditionnels de L'Algérie. In Développement de la Filière laitière et Fromagère en Algérie, CorFilac: 57-77.

Corrieu G et Luquet F-M., 2008. *Bactéries lactiques : de la génétique aux ferments*. Paris : TECH & DOC. P 41-108

Coulibaly I., 2010. Contribution à l'étude de la résistance au séchage des bactéries lactiques. Dissertation originale. Présentée en vue de l'obtention du grade de docteur en sciences agronomiques et ingénierie biologie. Université d Liège – Gembloux. *Agro-Bio Tech*. P49

D

Dellaglio, F., De Roissart, H., Torriani, S., Curk, M. et Janssens, C. 1994. Bactéries lactiques aspects fondamentaux et technologiques, 1 : 25-114.

De Man JC, Rogosa M, Sharpe ME (1960) Medium of Lactobacilli. Journal Applied Bacteriology, 23: 130–135

Desmazeaud M., 1998. Bactéries lactiques et qualité des fromages. Laboratoire de recherches laitières, INRA.

4.Devriese P., cole R., Dankert J., Frosch M. & VanPuten P.M., 2002. *Molecular Microbiology*. 27 (6) : 1203-1212

Djoughri K. Madani S. 2015. Etude microbiologique d'un produit laitier fermenté traditionnel (J'ben) : isolement et identification des bactéries lactiques. Mémoire de master. Université Kasdi Merbah. Ouargla.

Drouault, S., Corthier, G. 2001. Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés.

E

Elisabeth V. 2008. Aliment et boissons, filières et produit. 3eme éd. Doin. P 203

F

1.FAO/WHO.2002.Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. In Guidelines for the evaluation of probiotics in food. London, Ontario, Canada, pp.1-11.

Foulquié-Moreno M.R., Sarantinopoulos P., Tsakalidou E. et De Vuyst L., 2006. The role and application of enterococci in food and health. *International Journal of Food Microbiology*. 106: 1-24.

G

Guetouache M., 2015. Characterization and identification of lactic acid bacteria isolated from traditional cheese (Klila). Conference Paper · November 2015. Oran.

H

Harami A. et Horfi M., 2006. Contribution à la connaissance du camembert « Numidia ». *Mémoire d'ingénieur d'état en industrie agroalimentaire*. Université Mentouri de Constantine. 50p.

K

Khaled A. 2012. Effet de traitements thermiques sur les propriétés fonctionnelles de fromages traditionnels : le cas des pâtes persillées. Agricultural sciences. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II. French

Kacem, M., Karam, N.E. 2006. Physicochemical and microbiological study of “smen”, a traditional butter made from camel milk in the Sahara (Algeria): isolation and identification of lactic acid bacteria and yeasts. *Grasas y Aceites*, 57, 198–204.

Kandler O., 1983. Carbohydrate metabolism in lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* 49: 209-224.

Kunji E.R., Mierau I., Hagting A., Poolman B. et Konings W.N., 1996. The proteolytic system of lactic acid bacteria. *Antonie Van Leeuwenhoek* 70:187–221.

L

Labioui H., Elmoualdi L., El Yachioui M et Ouhssine M., 2005. Sélection de souches de bactéries lactiques antimicrobiennes. *Soc. Pharm. Bordeaux*. **144** (2) : 37, 250

Lahssaoui S. 2009. Etude de procéder de fabrication d'un produit traditionnel (Klila). Mémoire d'ingénieur d'états en agronomie. Université cheikh hadj lakhder. Batna.

Laithier C. 2011. Microflore du lait cru. Institut de l'Élevage. RMT filières fromagères valorisant leur terroir. Pp11

LARPENT J.P. et LARPENT G.M., 1990. Mémento technique de microbiologie 2ème Ed. *Technique et documentaire lavoisier*, Paris, P:417

Laurent, S. 1998. Manuel de bactériologie alimentaire. *Poly technica Paris*. 307 pages.

Leksir Ch. 2012. Caractérisation et contrôle de la qualité de ferments lactiques utilisés dans l'industrie laitière Algérienne. Mémoire de magistère. Université Mentouri de Constantine.

Lelivre L. 2012. Suivi de troupeau vétérinaire et transformation à la ferme : une opportunité supplémentaire. Thèse de doctorat. Université Claude-Bernard - Lyon I (Médecine - Pharmacie).

Leveau J.Y. et Bouix M., 1993. Microbiologie industrielle : les microorganismes d'intérêt industriel. Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 85-87.

Leyral, G., Vierling, E. 2001. Microbiologie et toxicologie des aliments .3ème édition Doin. France. P. 87-114.

Luquet, F.M., Corrieu, G. 2005. Bactéries lactiques et probiotiques. Edition Lavoisier, Paris. 307 pages.

M

Mahaut M., Jeantet R. et Brule G., 2000. Initiation à la technologie fromagère. *T & Doc Lavoisier*. 194p.

Mehnoune S. Ferhoul K. 2015. Contrôle de la propreté hygiénique de lait de vache cru avec application de la préparation du fromage frais « petit suisse ». Mémoire de master. Université Khemis Miliana.

Mennane Z., Khedid K., Zinedine A., Lagzouli M., Ouhssine M., Elyachioui M., 2007. Microbial Characteristics of *Klila* and *Jben* Traditionnal Moroccan Cheese from Raw Cow's Milk. *World Journal of Dairy & Food Sciences*. Pp 23-27.

Miszczycha Dimitri S. 2013. Croissance et survie des *Escherichia coli* producteurs de Shiga Toxines (STEC) en fonction des technologies fromagères mettant en œuvre du lait cru. Thèse de doctorat. Université Blaise Pascal de Clermont-Ferrand.

O

Ouadghiri, M. 2009. Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés « Iben » et « jben » d'origine marocaine. thèse de doctorat. Université Mohammed V – agdal faculté des sciences Rabat. 26-28.

Ouadghiri, M., Mohamed, A., Vancanneyt, M., Swings, J. (2005). Biodiversity of lactic acid bacteria in Moroccan soft white cheese (Jben). *FEMS Microbiology Letters*, **251**:267–271.

Oumai Y. 2014. Valorisation de Lactosérum Production de la Ricotta. Projet de Fin d'Etude Licence Es-Sciences Et Techniques (LST). Université Sidi Mohamed Ben Abdellah.

P

Pilet M.F., Magras C., Federighi M., 2005. Bactéries lactiques. In : bactériologie alimentaire (Federighi M.). 2e Ed., Economica. Paris. 219-240

Pérez Ibarreche M., Castellano P. & Vignolo G., Evaluation of anti-*Listeria* meat borne Lactobacillus for biofilm formation on selected abiotic surfaces. *Meat Science*. 2014. 96 : 295–303.

Poznanski, E., Cavazza, A., Cappa, F. and Cocconcelli, P. S. (2004). Indigenous raw milk microbiota influences the bacterial development in traditional cheese from an alpine natural park. *Int. J. Food Microbiol.* 92: 141–151

R

1.Ratti R.P., Gomes B.C., Martinez R.C.R., Souza V.M., De Martinis E.C.P., Elongated cells of *Listeria monocytogenes* in biofilms in the presence of sucrose and bacteriocin producing *Leuconostoc mesenteroides* A11. *Ciência e Tecnologia d'Alimentos.* 2010. 30(4): 1011-1016

Retureau E., Callone E., Robert D. & Monto M-C., Is microbial diversity an asset for inhibiting *Listeria monocytogenes* in raw milk. *Dairy. Scie. Technol.* 2010. **30.** 375-398

Riahi M.H. 2006. Modélisation de phénomènes microbiologiques, Biochimiques et physico-chimiques intervenant lors de L'affinage d'un fromage de type pâte molle croûte lavée. Thèse de doctorat. Institut National Agronomique Paris-Grignon

Romaine J et al. 2008. Les produits laitiers. Tec et Doc. 2eme ed. P 53.

S

Salminen S., Wright A.V and Ouwehand A.C., 2004. Lactic Bacteria Microbiological and functional aspects Third edition Taylor et Francis Group. Boca Raton London New York.

Salmeron, J., de Vega, C., Pérez-Elortondo, F.J., Albisu, M. and Barron, L.J.R. (2002). effect of pasteurisation and seasonal variations in the microflora of ewe's milk for cheese making. *Food Microbiol.* 19: 167-174.

3.Senoussi A., 2013. Caractérisation microbiologique de la peau de chèvre utilisée dans la fabrication du fromage traditionnel Algérien « *Bouhezza* ». *Mémoire de Magister.* INATAA. Université Mentouri de Constantine. 72p.

Serna L. & Rodriguez A., 2006. Lactic acid production by a strain of *Lactococcus lactis* subsp *lactis* isolated from sugar cane plants. *Electronic Journal of Biotechnology.* 9 (14) : 4-45.

Singleton, P. 1999.Bactériologie.4eme Edition. Dunod, Paris. 317 pages.

6.Stiles M.E. and Holzapfel W.H., 1997. Review article Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Int. J. Food Microbiol.* 36: 1-29.

T

Talantikite. K.S. 2015. Purification et caractérisation d'une enzyme coagulante d'origine microbienne pour application en fromagerie. Thèse de doctorat. Université M'Hamed Bougara. Boumerdes

Tamime A.Y., 2002. Microbiology of starter cultures. In: Dairy microbiology handbook (Robinson R.K.). 3e Ed., John Wiley and Sons, Inc., New York. 261-366.

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. Pp16.

V

Vignolo C.L. 2002. Science et technologie du lait. Canada. Pp 75-89.

Y

Yaoa A., Egounlety M., Kouame L.P. & Thonart P., 2009. Les bactéries lactiques dans les aliments ou boissons amylacées et fermentés de l'Afrique de l'ouest : leur utilisation actuelle. *Ann. Méd. Vét.* 2009. **153**, 54-65

Z

1. Zergoune F. 2015. La sélection des souches des bactéries lactiques protéolytiques isolées à partir d'un produit laitier fermenté artisanale à base de lait de vache « j'ben ». Mémoire de master. Université Kasdi Merbah. Ouargla.

Annexe

Compositions des milieux de culture:

Milieu M17

-Tryptone.....	2,50 g
- Peptone pepsique de viande.....	2,50 g
- Peptone papaïnique de soja	5,00 g
- Extrait autolytique de levure.....	2,50 g
- Extrait de viande.....	5,00 g
- Lactose.....	5,00 g
- Glycérophosphate de sodium.....	19,00 g
- Sulfate de magnésium.....	0,25 g
- Acide ascorbique.....	0,50 g
- Agar bactériologique.....	15,00 g

pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,1 ± 0,2.1

Autoclavage : 121°C pendant 15min

• Milieu MRS (de Man Rogosa et Sharpe, 1960)

Extrait de levure.....	5g
Extrait de viande.....	5g
Peptone.....	10 g
Acétate de sodium.....	5g
Citrate de sodium.....	2g
Glucose.....	20g
KH ₂ PO ₄	2g
MgSO ₄	0.1 g
.MnSO ₄	0.05 g
Agar.....	12g
Tween80.....	1 ml
Eau distillée q.s.p.....	1000 ml

pH=6.5±0.2 à 37°C Autoclavage : 121°C /15min

Médium des plaques API

Polypeptone	10 g
Extrait de levure	5 g
Tween 80	1 ml

Annexe

Phosphate dipotassique.....	2 g
Acétate de sodium	5 g
Citrate diammonique	2 g
Sulfate de magnésium.....	0,20 g
Sulfate de manganèse	0,05 g
Bromocrésol Pourpre	0,17 g
Eau déminéralisée 1000 ml.	
pH : 6,7-7,1	

Eau physiologique peptonée

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

• Eau physiologie 9 /ml:

NaC.....	19g
Eau distillée	1000 m

Colorants

• Violet de gentiane au cristal

Violet de gentiane.....	10g (ou 5g)
Phénol.....	20g
Ethanol à 0.95.....	100cm ³
Eau distillée	1dm ³ Les 3

premiers composants sont dans un premier temps dissous ensemble d'eau est ajoutée ensuite

Lugol

Iode.....	5g
IO dure de potassium.....	10g
Eau distillée qsp.....	1g

• Fuchsine de Ziehl

Fuchsine bosique	10g
Phénol.....	50g
Ethanol à.....	0.510cm ³
Eau distillée	1dm ³

Milieux utilisés pour l'identification bactéries

- **Bouillon nitraté**

Infusion coeur-cervelle.....	25,0 g
- Nitrate de sodium.....	10,0 g
- Eau distillée (qsp)	1 L