



الشعبية الديمقراطية الجزائرية الجمهورية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Amar Thelidji Laghouat

Faculté des Sciences, Département de Biologie

DOMAINE : Sciences de la Nature et de la Vie

OPTION : Microbiologie Fondamentale et Appliquée

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par : CHAIB Maroua & BENLARBI Fadhila

Thème

Etude de la Microflore de Quelques Produits Laitiers de Fabrication Artisanale dans la Région de Laghouat

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom	Grade	qualité
M ^r ZAROUKI Houssine	MAA	Président
M ^r MADOURI Redouane	MAA	Examineur
M ^r DJEBLI Ahmed	MAA	Rapporteur

Soutenu le 04/07/2023



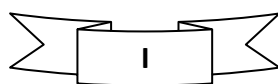
Remerciements

*Nous remercions tout d'abord Allah tout puissant de nous avoir donné la force,
la volonté et le courage pour réaliser ce travail.*

*Nous tenons à remercier Monsieur **DJEBLI Ahmed**, directeur et rapporteur de
thèse, pour le sérieux avec lequel il a poursuivi ce travail et pour son aide et ses
conseils précieux, nous avons été très heureux de travailler avec lui.*

*Nous remercions également les membres du jury pour leur présence et leur
évaluation de travail.*

Un grand merci à tous les laborantins.





Dédicace

Je dédie ce travail simple à ma chère mère qui m'a appris à être une femme et

m'a

beaucoup aidée pour mes études toutes ces années, pour les sacrifices que j'ai

faits,

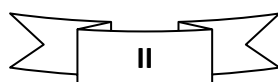
elle m'a toujours donné confiance et amour.

A mes frères Mohamed, Lakhdar et mes sœurs Khadija et Mariem et mon

père.

Et à tous les étudiants de ma classe.

CHAIB Maroua





Dédicace

Je dédie ce travail à mon très cher papa qui a été et sera toujours un exemple pour moi par ses qualités humaines, son honnêteté et sa responsabilité.

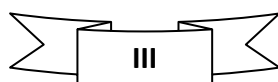
A celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse et de sacrifices à la mémoire de ma mère

A mes chères sœurs et mes chers frères

A tout ma famille et toutes mes amies chacun par son nom

A tous mes collègues et mes chers amis, Maria, Amel, zohra, wiam

BENLARBI Fadhila



Sommaire

Remerciements.....	I
Dédicaces.....	II
Sommaire.....	IV
Liste d'abréviations.....	VII
Liste des tableaux.....	VIII
Liste des figures.....	IX
Résumé.....	X
Introduction.....	1

Chapitre I : Généralités sur les produits laitiers

I.1 Définition sur le lait.....	2
I.2 Composition de lait.....	2
I.3 Produits traditionnels au lait	3
I.3.1 Klila.....	3
I.3.2 Fromage frais traditionnel (jben).....	4
I.3.3 Fromage.....	4
I.4 Fabrication de produits laitiers	5
I.5 Microflore dans les produits laitiers	5
I.5.1 La microflore indigène ou originelle	5
I.5.2 La microflore de contamination	5
I.6 Les bactéries lactiques	7
I.6.2 L'intérêt des bactéries lactique dans produits laitiers	7
I.6.3 La principe des bactéries lactique	8
I.7 Les flores pathogène	8
I.8 Flore d'altération	8
I.9 Les champignons microscopiques et les levures dans produits laitiers	8

Chapitre II : partie expérimentale

II. Cadre de l'étude	10
II.1 Échantillonnage.....	10
II.1.1 Jben.....	10
II.1.2 Fromage.....	10
II.1.3 Klila.....	11
II.2 Matériel et méthodes d'analyses microbiologiques.....	11
II.2.1 Préparation de la suspension mère.....	11
II.2.2 Préparation des dilutions décimales.....	12
II.2.3 Les milieux de la culture.....	13
II.3 Recherche de germes.....	13
II.3.1 La recherche de la flore totale aérobie mésophile.....	13
II.3.2 La recherche des entérobactéries.....	14
II.3.3 La recherche des staphylocoques à coagulase positive.....	14
II.3.4 La recherche des coliformes totaux	14
II.3.5 La recherche des <i>Bacillus cereus</i>	14
II.3.6 La recherche des levures et moisissures.....	14
II.3.7 Recherche des salmonelles	15
II.4 Isolement, purification et la conservation des souches	16
II.4. Isolement.....	16
II.4.2 Purification.....	16
II.4.3 Conservation des souches de courte durée	17
II.5 Identification des souches staphylocoques à coagulase+ et <i>Bacillus cereus</i>	17

II.5.1 Examen macroscopique.....	17
II.5.2 Examen microscopique	17
II.6 Caractères biochimiques.....	18
II.6.1 Test de catalase.....	18
II.6.2 TestDNase	18

Chapitre III : Résultats et discussion

III. Résultats des analyses microbiologiques	19
III.1 Examen macroscopique des colonies	20
III.2 Résultats de dénombrement	20
III.2.1 Flore mésophile aérobie totale (FTAM).....	20
III.2.2 Les entérobactéries	21
III.2.3 Les coliformes totaux.....	22
III.2.4 Les staphylocoques à coagulase positive.....	23
III.2.5 <i>Bacillus cereus</i>	24
III.2.6 Les moisissures et levures	25
III.3 Le résultat d'examen microscopique	26
III.4 Le résultat de caractère biochimique.....	27
III.4.1 Résultat de test catalase	28
III.4.2 Résultat test de DNase	28
IV. Discussions.....	28
Conclusion.....	31
Références bibliographique.....	32
Annexes.....	38

Liste des abréviations

ISO : International Organisations for Standardization

FTAM : Flore mésophile aérobie totale

VRBG : Violet Red Bile Glucose Agar

VRBL : Violet Red Bile Lactose Agar

GN : Gélose Nutritive

TSE : Tryptone Sel Eau

EPT : Eau Peptonée Tamponnés

UFC : Unité Formant Colonies

J.O.R.A : Journal Officiel de la République Algérienne, N°**39-2017**

FAO : Organisation pour L'alimentation et L'agriculture

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

Liste de tableaux

Tableau 01 : Composition moyenne du lait	2
Tableau 02 : Germes contaminant le lait cru	6
Tableau 03 : Dates et nombre des échantillons prélevés	11
Tableau 04 : Milieux de culture des germes bactériens susceptibles de se développer dans les produits laitiers	13
Tableau 05 : Les résultats des dénombrements en UFC/g	19
Tableau 06 : Résultats de l'examen macroscopique des colonies	20

Liste de figures

Figure 01 : Schéma des méthodes de fabrication des principaux produits laitiers algériens	5
Figure 02 : Bactéries lactiques <i>Lactococcus</i> et <i>Lactobacillus</i> sous microscope électronique	7
Figure 03 : Les unités prélevés de jben(Originale, 2023)	10
Figure 04 : Le processus de fabrication du fromage à pâte pressée fait maison (Originale, 2023)	11
Figure 05 : Les unités prélevés de klila(Originale, 2023)	11
Figure 06 :La préparation de suspension mère (Originale, 2023)	12
Figure 07 : Technique de préparation des dilutions décimales (Originale, 2023)	13
Figure 08 : Les protocoles de pré-enrichissement, enrichissement et l'isolement (Originale, 2023)	16
Figure 09 : Purification des staphylocoques à coagulase+ et <i>Bacillus cereus</i> sur la gélose nutritive (Originale, 2023)	17
Figure 10 : Méthodes de coloration de Gram (Originale, 2023)	17
Figure 11 : L'ensemencement de staphylocoques à coagulase+ sur gélose de test DNase (Originale, 2023)	18
Figure 12 : Variation du nombre de la FTAM (Originale, 2023)	21
Figure 13 : Milieu PCA au lait écrémé contaminé par la FTAM (Originale, 2023)	21
Figure 14 : Les variations du nombre des Entérobactériaceae (Originale, 2023)	22
Figure 15 : Milieu VRBG contaminé par des Entérobactériaceae (Originale, 2023)	22
Figure 16 : Variation du nombre des coliformes totaux (Originale, 2023)	23
Figure 17 : Milieu VRBL contaminé par des coliformes totaux (Originale, 2023)	23
Figure 18 : Variation du nombre des staphylocoques à coagulase+ (Originale, 2023)	24
Figure 19 : Milieu chapman contaminé par des staphylocoques à coagulase+ (Originale, 2023)	24
Figure 20 : Variation du nombre des <i>Bacillus cereus</i> (Originale, 2023)	25
Figure 21 : Milieu Mossel contaminé par des <i>Bacillus cereus</i> (Originale, 2023)	25
Figure 22 : Variation du nombre des levures et moisissures(Originale, 2023)	26
Figure 23 : Milieu sabouraud contaminé par des moisissures et levures (Originale, 2023)	26
Figure 24 : Observation microscopique des staphylocoques à coagulase+ (Grossissement : ×100) (Originale, 2023)	27
Figure 25 : Observation microscopique de <i>Bacillus cereus</i> (Grossissement: ×100) (Originale, 2023)	27
Figure 26 : Bulles libérées dans le test de la catalase (Originale, 2023).	28
Figure 27 : Les résultats de test Danse (Originale, 2023)	28

Résumé :

Ce travail a pour objectif principal d'étudier la qualité microbiologique de certains produits laitiers fabriqués traditionnellement dans la région de Laghouat.

Les analyses des échantillons de produit, dans le cadre de l'évaluation de la qualité hygiénique et sanitaire, indiquent la présence de flores de contamination à faible charge. Cela se traduit par les résultats suivants : pour la flore mésophile aérobie totale a atteint une valeur maximale de 6.6×10^3 UFC/g , ainsi que d'une valeur maximale de $2,9 \times 10$ UFC/g pour les enterobactéries, tandis que la plupart des coliformes totaux avaient <10 à l'exception d'une valeur de 2×10 UFC/g. Pour les staphylocoques à coagulase positive, il s'agissait d'une valeur maximale de 5.7×10^2 UFC/g, et les *Bacillus cereus* avait la valeur la plus élevée de $2,5 \times 10$ UFC/g, Quand on parle des moisissures et levures, elles avaient des charges élevées par rapport aux autres microflores. Ce qui est rassurant, c'est l'absence de flores pathogènes telles que la salmonelle.

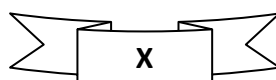
Mots clés : Produits laitiers artisanale - Qualité microbiologique - Flore de contamination- Flore pathogène.

Abstract :

The main objective of this work is to study the microbiological quality of certain dairy products traditionally made in the laghouat region.

The analysis of product samples ,as part of the assessment of hygienic and sanitary quality , indicates the presence of low-level contamination flora .this is reflected in the following results: for the total aerobic mesophilic flora reached a maximum value of 6.6×10^3 CFU/g, as well as a maximum value of 2.9×10 UFC/g for enterobacteria, while most of the total coliforms had <10 with the exception of one value of 2×10 UFC/g. For coagulase-positive staphylococci, its maximum value was 5.7×10^2 CFU/g, and the *Bacillus cereus* had the highest value of 2.5×10 CFU/g, when we talk about molds and yeasts, they had high loads compared to other microflora. What is reassuring is the absence of pathogenic flora such as salmonella.

Keywords : Artisanal dairy products - Microbiological quality - Contamination flora- Pathogenic flora.



ملخص :

الهدف الرئيسي لهذا العمل هو دراسة الجودة الميكروبيولوجية لبعض منتجات الألبان المصنوعة تقليدياً في منطقة الأغواط. تشير تحاليل عينات المنتجات في إطار تقييم الجودة الصحية إلى وجود فلور التلوث بتراكيز منخفضة ويترتب على ذلك النتائج التالية: بالنسبة لمجموع الفلور الهوائية المتوسطة وصل الحد الأقصى لقيمتها 6.6×10^3 CFU / g ، وكذلك قيمة قصوى تبلغ 2.9×10 CFU / جم للبكتيريا المعوية ، في حين أن معظم القولونيات الكلية بها قيم > 10 باستثناء قيمة واحدة 2×10 CFU / جم. بالنسبة للبكتيريا القولونية العنقودية إيجابية المخثر كانت بقيمة قصوى تبلغ $5.7 \times$ CFU / 10^2 g ، وكان لدى العصوية الشمعية أعلى قيمة تبلغ 2.5×10 CFU / g ، عند التحدث عن الفطريات والخمائر، كان لديهم تراكيز مرتفعة مقارنة بالميكروفلور الأخرى. الأمر المطمئن هو عدم وجود الفلور المسبب للأمراض مثل السالمونيلا.

الكلمات المفتاحية : منتجات الألبان الحرفية- الجودة الميكروبيولوجية - فلور التلوث - فلور المسبب للأمراض.

Introduction

Introduction

Introduction

Les produits laitiers jouent un rôle important dans l'alimentation humaine. Notre pays est le plus grand consommateur de lait dans la région du Maghreb (1). Les produits laitiers traditionnels algériens importants qui ont la signification commerciale sont : Raibe, Lben, Klila, Zebda et jben (2). Les régions méditerranéennes sont réputées pour produire un grand nombre de fromages artisanaux. Les fromages traditionnels en Algérie sont fabriqués à petite échelle à partir de lait non pasteurisé (vache, brebis ou chèvre).

L'Algérie a une tradition des produits laitiers bien établie, transmise de génération en génération, qui a un aspect important de la culture algérienne. Le lait abondant durant certain moment de l'année, difficile de le conserver et facilement périssable, surtout dans les zones à climat chaud. Dans n'importe quelle culture, il a été toujours traité pour augmenter la durabilité et la valeur nutritive et en même temps permettre la commercialisation, les femmes algériennes comme toutes les cultures pastorales, ont toujours été les principaux protagonistes autour de la transformation du lait. Cette dernière se fait par l'intermédiaire des bactéries lactiques(3).

La microflore microbienne du lait cru, composée essentiellement des bactéries lactiques, participe de façon importante à l'élaboration des caractéristiques organoleptiques des produits laitiers fermentés (laits fermentés, fromages). De nombreuses études scientifiques montrent que les produits laitiers préparés traditionnellement à partir du lait cru ont des saveurs typiques et des qualités nutritionnelles de plus en plus recherchées par le consommateur(4).

Problématique :

Cette étude a pour objectif d'évaluer la qualité microbiologique des produits laitiers fabriqués de manière artisanale, dans le but de promouvoir et de maximiser la production locale dans ce domaine. Afin d'atteindre cet objectif, des analyses microbiologiques sont réalisées pour contrôler la qualité, et sécurité de ces produits.

Chapitre I
Partie
Bibliographique

I.1 Définition :

Le lait est un liquide physiologique naturel opaque de couleur blanche plus au moins jaunâtre selon sa teneur en matière grasse et en beta carotène, d'odeur peu marquée et au goût douceâtre, il est fourni par les femelles des mammifères après la naissance du jeune. Est considéré comme un aliment complet (5). Selon la fédération internationale de laiterie (FIL) et le code FAO/OMS le lait est : le produit de la sécrétion mammaire normale, obtenu par une ou plusieurs traites, sans aucune addition ou sous traction(6). Est occupé une place stratégique dans l'alimentation quotidienne de l'homme, de par ses composants nobles et sa richesse en vitamines et en minéraux, notamment en calcium alimentaire (7).

Le maintien du lait dans des citernes propres et la conservation dans le réfrigérateur juste après la traite peuvent retarder l'augmentation de la charge microbienne initiale et éviter la multiplication des micro-organismes dans le lait entre la traite à la ferme (8). L'importance et la nature des bactéries contaminant le lait, dépendent, de l'état sanitaire de l'animal, de la nature des fourrages (9).

Constitue un milieu favorable pour le développement des germes. Lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, le lait cru contient peu de germes (103 germes par ml). Il s'agit des germes saprophytes (10).

I.2 Composition de lait :

Tableau 1 : Composition moyenne du lait (11).

Composants	Teneurs (g/ 100g)
Eau	89.5
Dérivés azotés	3.44
Protéines	3.27
Caséine	2.71
Protéines solubles	0.56
Azote non protéique	0.17
Matières grasses	3.5
Lipides neutres	3.4

Lipides complexes	<0.05
Composés liposolubles	<0.05
Glucides	4.8
Lactose	4.7
Gaz dissous	5% du volume du lait
Extrait sec total	12.8g

I.3 Produits traditionnels au lait :

C'est l'augmentation de la production du lait durant certaines saisons et la difficulté de sa préservation sous la forme fraîche a conduit au développement des technologies de production traditionnelle (12). La consommation des produits laitiers est également associée à des effets bénéfiques sur la santé en plus de leurs valeurs nutritionnelles (13).

Produits laitiers traditionnels algériens, tels que raïb, Lben, Jben, Bouhazza, Lghaunane, la Blunt ou caséine séchée, crème, Aoule, Lebaa, Méchouna, Madghissa, Kémaria. Ces produits font partie intégrante du patrimoine algérien et ont une grande importance culturelle, médicinale et économique, et ont été élaborés sur une longue période avec les compétences culinaires de l'agriculteur ainsi que la conservation des solides du lait pendant une période plus longue à température ambiante (14).

- Les produits au lait cru varient, qu'ils soient de vache ou de chèvre...etc. Localement de manière traditionnelle, nous sommes occupés de l'identification et de la recherche de micro-organismes dans des dérivés spécifiques de produits laitiers traditionnels (klila, jben, fromage).

I.3.1 klila :

En Algérie, le klila est un fromage traditionnel populaire de la campagne, il est fabriqué à partir du lait cru de vache ou brebis non pasteurisé.

Ce fromage est fabriqué par la conservation du lait dans des pots propres à la température ambiante (généralement 2 jours) pour voir après un goût acide, le lait acide appelé « Raib », est baraté dans une peau de chèvre spécial appelée « Chakoua » durant 1 à 2 heures puis l'eau est additionné pour séparer le beurre qui va être après collectée.

Après chauffage du Lben pendant 15 min à 40-50 °C le lactosérum est séparé du coagulum par la filtration à travers une mousseline (chèche). Le fromage obtenu appelé « klila » est consommé sous cette forme ou bien séché sous le soleil pour une longue conservation.

(15).

I.3.2 Fromage frais traditionnel (jben) :

Le « Jben » est le fromage frais le plus connu et la consommation de ce produit s'est accrue suite à l'installation dans les villes d'un grand nombre de laiteries traditionnelles qui préparent le «Jben» à partir du lait cru selon des procédures souvent artisanales. A côté de ce secteur traditionnel, certaines unités laitières semi-industrielles se sont aussi intéressées à la fabrication du «Jben», utilisant du lait soit cru, soit pasteurisé, et des procédures de préparation plus ou moins améliorées. De ce fait, il existe aujourd'hui de nombreuses méthodes de préparation du «Jben», et par conséquent, plusieurs variétés de fromage frais sont commercialisées sous la dénomination populaire commune de "Jben" (16) fromage séché au soleil.

Le processus de fabrication nécessite trois grandes étapes essentielles la maturation, la coagulation et l'égouttage du caillé: le lait cru est abandonné à lui même dans une ouater de peau de chèvre, ou dans une jarre en terre cuite généralement pendant 24 à 48h selon la saison à température ambiante pour s'acidifier spontanément de façon à favoriser la multiplication d'une flore lactique qui va jouer un rôle important dans l'acidification du lait(17).

I.3.3 fromage :

Est un produit fermenté ou non, affiné ou non, obtenu à partir des matières d'origine exclusivement laitières, utilisées seul ou en mélange et coagulé en tout ou en partie avant égouttage ou après élimination partielle de la phase aqueuse. La teneur minimale en matière sèche du produit ainsi défini doit être de 23 grammes par 100 grammes de fromage (18) fromage à pate pressée cuite.

La production de fromage dans le monde est principalement pratiquée dans les fromageries, mais dans certaines régions, la production à petite échelle, selon les méthodes traditionnelles (19).

I.4 fabrication de produits laitiers :

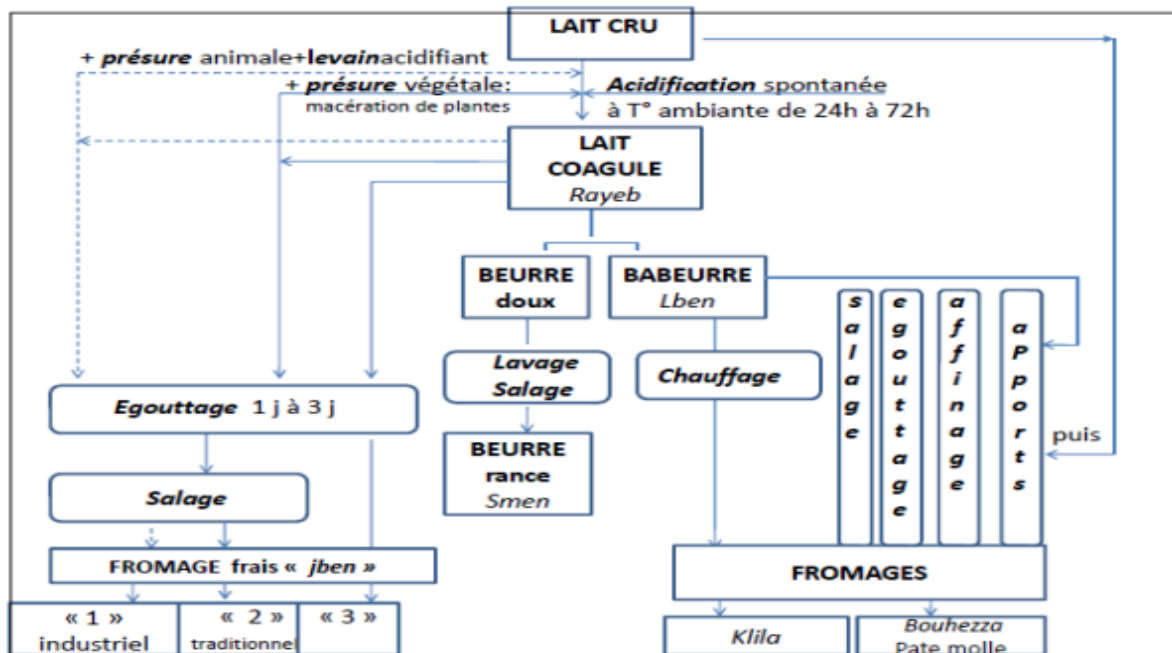


Figure 1 : Schéma des méthodes de fabrication des principaux produits laitiers algériens(14).

I.5 Microflore dans les produits laitiers :

Les micro-organismes des produits laitiers sont répartis en deux grandes classes :

I.5.1 La microflore indigène ou originelle :

Les microorganismes des aliments ont trois origines possibles :

Ils préexistent dans la matière brute ou l'aliment avant toute manipulation ou transformation. Ils sont apportés accidentellement lors des manipulations ultérieures de l'aliment. Ils sont ajoutés volontairement (20).

Préexistence avant transformation de la matière première (Microflore indigènes ou originelles). C'est l'ensemble des micro-organismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis, ces micro-organismes dépendent de l'alimentation, de la race et d'autres facteurs. Les genres dominants sont principalement des micro-organismes mésophiles : *Micrococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* ou *Lactococcus* et les bactéries à Gram négatif (21).

I.5.2 La microflore de contamination :

C'est l'ensemble des micro-organismes présent dans le lait de la ferme jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération qui causera des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de conservation des produits et, d'une flore pathogène, capable de provoquer des maladies chez les personnes qui consomment ces produits laitiers (21).

Flore de contamination La présence d'une flore de contamination fécale parfois à des taux très importants dans le jben est révélatrice des conditions d'hygiène pratiquées dans les ateliers de préparation de ce produit. La nature acide du jben n'est pas une garantie contre la présence des germes pathogène d'origine entérique (*salmonella* ; *Yersinia entérocolitica*,.....) ou cutanée (*staphylococcus aureus*...). Dans ce produit traditionnel et d'après **Hamama, (1988)**, la présence de Salmonella est de 10 % et celle de *S.aureus* est de 17,4 % , avec des taux détectables de l'entérotoxine Staphylococcique (22).

La flore de contaminations par divers microorganismes peuvent provenir de l'environnement: Entérobactéries, Pseudomonas, Microcoques, Bacillus, etc..., par l'intermédiaire du matériel de traite et de stockage du lait, par le sol, l'herbe ou la litière(23).

Tableau 2 : Germes contaminant le lait cru (24).

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

I.6 Les bactéries lactiques :

I.6.1 Définition:

Ce sont des cellules vivantes, procaryotes, hétérotrophe et chimio-organotrophe constitué de cocci et de bacilles (25). Elles jouent un rôle important dans de nombreux procédés laitiers et produisant de l'acide lactique. Elles colonisent de nombreux produits alimentaires comme les produits laitiers, la viande les végétaux et les céréales et font partie de la flore qui permet la fermentation spontanées de produit alimentaires (26).

Les bactéries lactiques sont très abondantes dans la nature. Elles se développent avec la levure dans le vin, la bière et le pain. Quelques espèces colonisent le tube digestif de l'homme et des animaux (27).

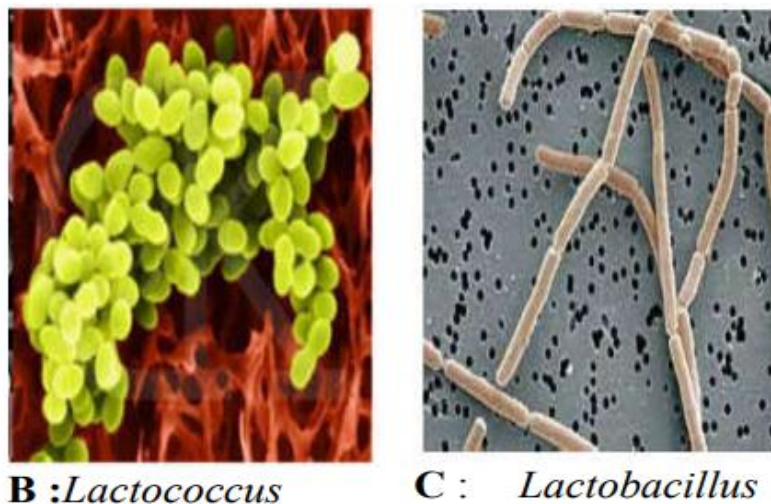


Figure 2: Bactéries lactiques *Lactococcus* et *Lactobacillus* sous microscope électronique (En ordre) (28).

I.6.2 L'intérêt des bactéries lactique dans produits laitiers :

Les bactéries lactiques produisent des métabolites qui améliorent la conservation des produits alimentaires, les acides organiques, élaborés lors de la fermentation des glucides, peuvent inhiber des levures, des moisissures et des bactéries. En diffusant à travers les couches lipidiques de la membrane bactérienne, ils provoquent un abaissement du pH interne par libération de protons, déstabilisant ainsi le fonctionnement de la cellule bactérienne.

Les bactéries lactiques sont utilisées dans plusieurs technologies pour répondre aux besoins de l'industrie alimentaire, cosmétique, et pharmaceutique (29). Il existe quatre catégories réglementaires informées Par l'utilisation prévue du produit et chacune d'entre elles a des exigences différentes. Ces catégories sont les médicaments ou les produits biologiques;

Compléments alimentaires; Nourriture ou ingrédient alimentaire; et la nourriture médicale (30).

I.6.3 La principe des bactéries lactique :

Elles ont un rôle essentiel de produire de l'acide lactique à partir du lactose ils produisent aussi de petites quantités d'aldéhydes ou d'acide volatils qui sont des composants d'arome les streptocoques lactique sont les principaux responsables de la formation du caillé mais ils agissent encoure sur le lactose résiduel lors de l'égouttage et même au début de l'affinage.

les lactobacilles (*Lactobacillus bulgaricus*, *L.ptantarum*, *L.casei*, *L.thermophilus*) sont pour la plupart des espèces homofermentaires. Ils participent de façon plus importante que les streptocoques à la production de composants d'arome. Leurs rôles est donc essentiel au cours de l'affinage. Peu représentés dans le lait et caillé, leur concentration augmente fortement pendant l'affinage(23).

I.7 Les flores pathogène :

Les bactéries pathogènes pour l'homme peuvent être présentes dans le lait cru, ou dans les produits laitiers qui en dérivent. Elles sont capables de provoquer des maladies chez les personnes qui consomment ces produits. Les plus importantes sont les plus souvent mésophiles et les principaux sont : *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Campylobacterjejuni*, *Shigellasonei* et certaine moisissures (32).

Staphylococcus aureus est une bactérie qui joue un rôle important dans les infections communautaires que nosocomiales (56).

Salmonella Ils ont également un tropisme digestif et sont pathogènes pour l'homme et de nombreux animaux vertébrés. L'exemple des espèces responsables de fièvres typhoïdes (*S.Typhi*, *S.Paratyphi A*, *B*, *C*) (57).

I.8 Flore d'altération :

La flore d'altération causera des défauts sensoriels de goût, d'arômes, d'apparence ou de texture et réduira la vie de tablettes de produit laitier. Parfois, certains microorganismes nuisibles peuvent aussi être pathogènes. L'un n'exclut pas l'autre. Les principaux genres sont : *Escherichia* et *Enterobacter*, les sporulées telles que *Bacillus sp*, *Clostridium sp* et certaines levures et moisissures(31)(32).

I.9 Les champignons microscopiques et les levures dans produits laitiers :

Parmi les nombreuses espèces de levures peuplant le lait, seules certaines espèces peuvent se maintenir dans le caillé. Elles produisent des composés d'arome.

Les moisissures elles jouent un rôle très actif dans l'affinage .Citons *Penicillium caseicolum* dans le fromage de Brie, *Penicillium caomembertii* et *Geotrichm* dans le camembert, *Penicillium roquefortii* dans les fromages à pate persillée type roquefort.

Ces moisissures ont une activité lipolytique et protéolytique intense. La caséine, les graisses du caillé sont métabolisées en un grand nombre de composés concourant largement au développement des qualités organoleptiques du fromage. La plupart consomment l'acide lactique, ce qui désacidifie le fromage et contribue à lui donner sa texture définitive(23).

Certaines moisissures qui sont pour la plupart toxigènes, c'est-à-dire qu'elles produisent une toxine dans le produit alimentaire, c'est pour cette raison qu'il faut jeter tout aliment moisi, car la toxine diffusée dans l'aliment sera source de danger pour la santé. Ces derniers sont des micro-organismes ayant absolument besoin d'oxygène pour se développer. C'est pourquoi on les retrouve principalement à la surface des produits laitiers ou dans les canaux des fromages bleus (33).

Même si les levures ne sont pas pathogènes, la dégradation d'aliment causée par ces microorganismes peut être un indice de mauvaises pratiques de fabrication mal contrôlées (33).

Chapitre II

Partie Expérimentale

Matériel et Méthodes

II. Cadre de l'étude :

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie du Département DeBiologie, Faculté Des Sciences- Université Amar Telidji-Laghouat. Il vise à évaluer la qualité microbiologique de quelque produit laitier de fabrication artisanale, commercialisés dans la région de Laghouat.

L'étude consistait en la recherche et/ou le comptage de :

- La flore mésophile aérobie totale.
- Les Entérobactéries (Entérobactiaceae).
- Les coliformes totaux.
- Staphylocoques a coagulase positive.
- *Bacillus cereus*.
- Les levures et moisissures.
- *Salmonella spp.*

II.1 Échantillonnage :

II.1.1 Jben : Le Jben a été acheté à Laghouat, avec un échantillon composé de 5 unités d'une quantité de 100 g, transporté au laboratoire dans une glacière à 4°C.



Figure 3: Les unités prélevés de Jben (Originale, 2023).

II.1.2 Fromage : Le fromage a été fait à la maison avec un lait de vache de 1 litres, ce dernier a été acheté d'une épicerie dans le centre -ville (galouzza).

Faites chauffer un litre de lait de vache jusqu'à ébullition à feu doux, puis ajoutez-y deux cuillères à soupe de vinaigre, pressez le jus d'un demi-citron, puis remuez un peu jusqu'à ce que le liquide se sépare du solide, puis on filtre.



Figure 4: Le processus de fabrication du fromage à pâte pressée fait maison (Originale, 2023).

II.1.3 Klila : L'échantillon de klila a été obtenu auprès d'une quantité de 100 g pour chaque unité.



Figure 5: Les unités prélevés de Klila(Originale, 2023).

Tableau 3: Dates et nombre des échantillons prélevés (Originale, 2023).

Les échantillons	Type des échantillons	Les unités	Les dates de prélèvement
Echantillon A	Fromage (a pâtes pressées)	5 unités	27/03/2023
Echantillon B	Jben(fromage frais)	5 unités	11/02/2023
Echantillon C	Klila	5 unités	28/01/2023

II.2 Matériel et méthodes d'analyses microbiologiques :

II.2.1 Préparation de la suspension mère :

Nous avons préparé la suspension mère et les dilutions selon le protocole défini dans la méthode (ISO6887-1/2017). Pour la recherche et les examens microbiologiques des produits alimentaires destinés à la consommation humaine, dans le respect des règles nécessaires.

La suspension mère a été réalisée dans des conditions stériles, en prenant 10 grammes de chaque unité d'échantillonnage (Jben, Klila, Fromage) et en la transférant dans un flacon contenant 90 ml de diluant TSE avec homogénéisation au vortex pour obtenir une solution que nous considérons comme la première dilution (10^{-1}).



Figure 6: La préparation de suspension mère (Originale, 2023).

II.2.2 Préparation des dilutions décimales :

Nous préparons une série de dilutions, en prélevant 1 ml de la solution mère à l'aide de micropipettes et en les plaçant dans un tube contenant 9 ml de TSE (10^{-2}). Après homogénéisation, nous prélevons 1 ml de ce dernier dans un autre tube contenant 9 ml de TSE, pour obtenir une dilution (10^{-3}).

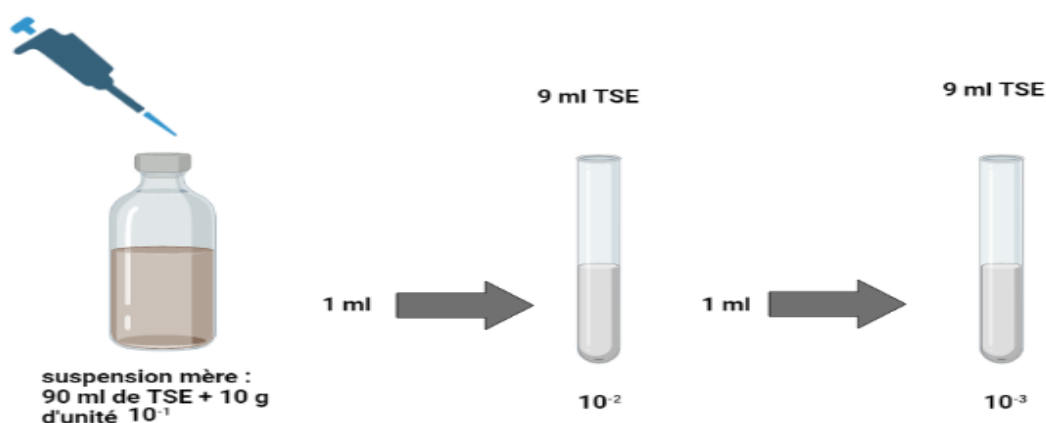


Figure 7: Technique de préparation des dilutions décimales (Originale,2023).

II.2.3 Les milieux de la culture :

Tableau 4: Milieux de culture des groupes bactériens susceptibles de se développer dans les produits laitiers.

Les germes recherchés	Les milieux de culture
FTAM	PCA au lait écrémé
Les Entérobactéries	VRBG
Les coliformes totaux	VRBL
Staphylocoque à coagulase+	Chapman
<i>Bacillus cereus</i>	Mossel
Les levures et moisissures	Sabouraud
<i>Salmonella spp</i>	Hektoen
La conservation des souches	Gélose nutritive

II.3 Recherche de germes:

Les produits laitiers sont constitués des millions de bactéries bénéfiques et d'autres nocives, parmi lesquelles se trouvent les bactéries que nous avons recherchées dans les produits laitiers traditionnels fabriqués à base de lait cru.

II.3.1 La recherche de la flore totale aérobie mésophile :

Selon la méthode (ISO 4833-2 : 2013) pour le dénombrement de FTAM. On met 1 ml de chacune de la suspension mère et des dilutions (10^{-2}) et (10^{-3}) dans des boîtes de Pétri avec ajout du milieu PCA au lait écrémé. Incuber les boîtes à 30 °C pendant trois jours.

II.3.2 La recherche des entérobactéries :

Pour le dénombrement des Enterobacteriaceae, nous suivons la méthode d'**ISO 21528-2 :2004**. On peut résumer le protocole comme suit : mettre 1 ml de solution mère dans des boîtes de Pétri et on verse dessus le milieu stérile VRBG en mélangeant soigneusement, puis on laisse solidifier, et on fait la même méthode avec la dilution(10^{-2}). Faire incuber les boîtes à 37 °C pendant 24 heures.

II.3.3 La recherche des staphylocoques à coagulase positive :

Les staphylocoques à coagulase positive est recherché dans le milieu PB selon **ISO 6888-1 :2021**, mais comme ce milieu n'était pas disponible au laboratoire, il a été remplacé par le milieu Chapman. Ce dernier, connu par sa sélectivité aux staphylococcus aureus. L'ensemencement s'est fait sur surface après solidification et séchage du milieu coulé dans les boîtes pétri. Comme indiqué dans le protocole de la norme, l'incubation est réalisée à 37 °C pendant 24 h.

II.3.4 La recherche des coliformes totaux :

Après la préparation de milieu VRBL solide que on le stérilisé avant, le dénombrement s'effectue sur 1 ml de chacune suspensions mère dans les boîtes de pétri, puis on ajoute le milieu VRBL à l'état liquide avec un mouvement circulaire. Après la solidification, l'incubation est effectuée à 30 °C pendant 24 h. Cela dépend d'**ISO 4831 :2006**.

II.3 .5 La recherche des *Bacillus cereus* :

On prélève 0,1 ml des unités de suspension mère avec micropipette et on le transfère dans les boîtes de Pétri couler par milieu mossel, puis étaler à l'aide d'un râteau sur la surface, et sont incubées à 30 °C pendant 24 h. approuvé par **d'ISO 7932 :2021**.

II.3.6 La recherche des levures et moisissures :

Prélever dans des conditions stériles 0,1 ml de tube décimal dilué (10^{-2}) à l'aide d'une micropipette, et le transférer dans une boîte de Pétri contenant du milieu solide sabouraud, avec l'étalement et laisser sécher, puis le mettre dans l'incubateur 30 °C pendant 5 jours.(**ISO 21527-1 :2008**).

II.3.7 Recherche des salmonelles :

La recherche de *Salmonella spp* comporte plusieurs étapes selon le méthode **ISO 6579-1 :2017** :

1. L'étape de pré-enrichissement :

Peser 25 g de chaque unité (F, K, J).On met ce dernier dans un flacon contenant 225 ml de bouillon nutritif l'eau peptoné tomponé EPT, Bien mélanger pour obtenir un mélange homogène, et nous le laissons dans l'incubateur pendant 24 h à 37 °C.

2. L'étape d'enrichissement :

Le bouillon Rappaport est utilisé comme milieu d'enrichissement pour l'isolement des salmonella. Cette étape est réalisée en milieu liquide sélectif à partir pré-enrichissement et se déroule comme suit :

Nous prenons 0,1 ml par micropipette du flacon préalablement préparé (pré-enrichissement), et le mettons dans un tube contenant 10 ml de milieu Rappaport, avec homogénéisation. L'incubation à 37 °C laisse 24 h.

3. L'étape d'isolement :

La gélose Hektöen est un milieu sélectif permettant l'isolement et la différenciation des entérobactéries pathogènes. Elle est utilisée en santé animale dans le cadre de la recherche de *Salmonella* chez les mammifères **(34)**.

La gélose Hektöen peut être utilisée comme second milieu au choix dans les méthodes normalisées de recherche des salmonelles**(34)**.

En zone stérile, on place 0,1 ml de la solution préparée dans l'étape de l'enrichissement au centre des boites coulées par milieu Hektöen, avec l'ensemencement en surface. Incubée à 37°C laisse 24 h.

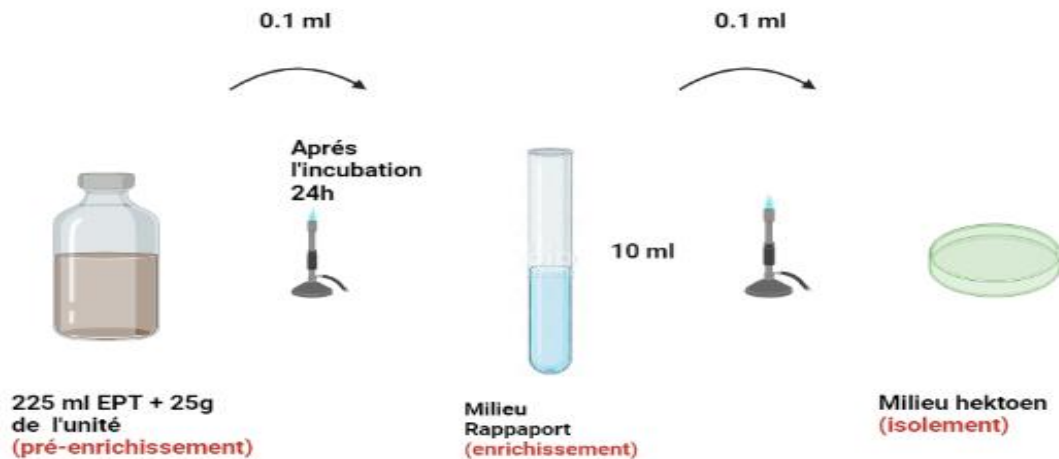


Figure 8: Les protocoles de pré-enrichissement, enrichissement et l'isolement (Originale, 2023).

II.4 Isolement, purification et la conservation des souches :

II.4.1 Isolement :

Sur la gélose nutritive, nous avons isolé les colonies apparues chez milieu mossel et chapman par pipette pasteur avec la technique de quadrants. L'incubation se fait à 35 °C pendant 24 h.

II.4.2 Purification :

La purification est effectuée en repiquage, les colonies qui isolée dans du milieu GN. Les cultures sont incubées pendant 24 h à 35 °C. Répétez la même méthode plusieurs fois jusqu'à ce que seules les colonies purifiées soient conservées pour identification.

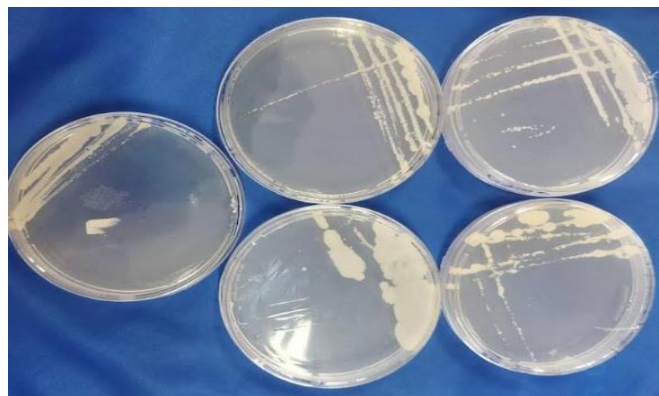


Figure 9: Purification des staphylocoques à coagulase+ et *Bacillus cereus* sur la gélose nutritive (Originale, 2023).

II.4.3 Conservation des souches de courte durée :

Les souches sont conservées à 4 °C dans la GN en tubes inclinées régénérées chaque 3 semaine.

II.5 Identification des souches staphylocoques à coagulase+ et *Bacillus cereus*:

II.5.1 Examen macroscopique :

Cette étude a été menée sur observation visuelle en culture, ce qui permet de déterminer les caractéristiques phénotypiques (taille, forme, diamètre, pigmentation...etc).

II.5.2 Examen microscopique :

Examen à l'état frais ce qui permet de voir les bactéries vivantes et d'estimer leur mobilité, morphologie et son mode de groupement, puis coloration de Gram.

Coloration de gram :

On peut résumer le principe de coloration du Gram comme suit : Dans un premier temps, les bactéries sont colorées en violet par un colorant basique tel que le violet de gentiane, puis par une solution de lugol. Ce colorant se fixe sur le cytoplasme.

-Dans la deuxième étape les bactéries sont soumises à l'action d'un solvant organique. Ce solvant peut traverser les membranes riches en lipides et décolore le cytoplasme. A l'inverse, lorsque la paroi est riche en peptidoglycane et pauvre en lipides, les solvants ne peuvent pas la traverser et le cytoplasme reste coloré en violet.

- Dans une troisième étape, pour mieux visualiser les bactéries décolorées, on leur fait subir un traitement par la fuschine. Les bactéries à G+ restent violettes alors que les bactéries à G- se recolorent en rose(35).

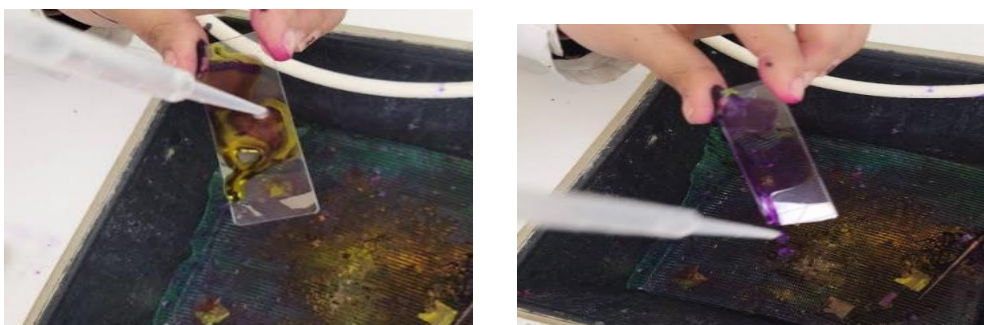


Figure 10: Méthodes de coloration de Gram(Originale, 2023).

II.6 Caractères biochimiques :

II.6.1 Test de catalase :

Test de détection de la catalase, il consiste à placer une colonie bactérienne sur une lame, puis on y met une goutte d'eau oxygénée.

II.6.2 Test DNase :

Certaines bactéries sont capables d'hydrolyser l'acide désoxyribonucléique grâce à une enzyme, la DNase, et la présence de l'espèce *S. aureus* est détectée par la DNase. La réaction catalysée est la suivante : $ADN + H_2O \rightarrow$ Nucléotides et/ou polynucléotides.

Avec l'aide d'une micropipette, nous prélevons les colonies pures de staphylocoques à coagulase+ de la gélose nutritive afin de réaliser l'ensemencement sous la forme d'une strie dans la gélose de test DNase. Est incubé à 37 °C pendant 24h.



Figure 11: L'ensemencement de staphylocoques à coagulase+ sur gélose de test DNase

(Originale, 2023).

Chapitre III

Résultats et

Discussion

III. Résultats des analyses microbiologiques :

Les résultats des analyses microbiologiques des produits analysés exprimés en UFC/g, représentent la charge de la microflore recherchée. Retenir pour comptage, les boîtes de Pétri contenant un nombre de colonies. Nous les expliquons dans le tableau suivant :

Tableau 5: Les résultats des dénombrements en UFC/g.

ECHANTS	Les unités	FTAM	Entérobactériaceae	Les coliformes totaux	Les staphylocoque à coagulase +	<i>Bacillus cereus</i>	Les moisissures et levures
KLILA	K1	$3,3 \times 10^3$	<10	<10	$3,7 \times 10^2$	<10	<10
	K2	6.6×10^3	<10	<10	5.7×10^2	<10	6×10^2
	K3	2.6×10^2	<10	<10	1×10^2	<10	3×10^3
	K4	3.6×10^3	<10	<10	$5,7 \times 10^2$	<10	3×10^3
	K5	1×10^2	<10	<10	1.6×10	<10	4.5×10^2
JBEN	J1	3×10^3	<10	<10	$4,9 \times 10^2$	<10	3×10^3
	J2	1.6×10^3	<10	<10	2.5×10^2	<10	3×10^3
	J3	2.5×10^2	<10	<10	1.8×10^2	<10	3×10^3
	J4	1.4×10^3	<10	<10	1.8×10^2	<10	3×10^3
	J5	2.5×10^3	<10	<10	2×10^2	<10	3×10^3
FROMAGE	F1	3×10^3	<10	<10	2.4×10	1.5×10	4.9×10^2
	F2	1×10^3	2.9×10	2×10	1×10	2.5×10	7.6×10^2
	F3	7×10^2	<10	<10	<10	1.1×10	6.2×10^2
	F4	8.3×10^2	<10	<10	1.2×10	2.2×10	1.7×10^2
	F5	9.1×10^2	<10	<10	<10	<10	3×10^3

Le dénombrement des colonies est réalisé à l'aide de la formule suivante(36) :

$$N = \frac{\sum c}{(n1 + 0.1n2)d}$$

Où

c: Somme totale des colonies comptées.

n1: Nombre de boîtes comptées dans la première dilution.

n2 : Nombre de boîtes comptées dans la seconde dilution.

d: Facteur de dilution à partir duquel les premiers comptages ont été obtenus.

III.1 Examen macroscopique des colonies :

Tableau 6: Résultats de l'examen macroscopique des colonies.

Milieu de culture	Aspect des colonies
PCA au Lait écrémé	Présence des colonies à couleur blanche de différentes tailles.
VRBG	L'apparition des colonies roses
Chapman	La présence des colonies jaunes, et changement la couleur du milieu.
VRBL	Présence des colonies roses
Mossel	Présence des différentes colonies roses avec un virage de couleur du milieu.
Sabouraud	Apparition des moisissures avec des pigments, et des levures.
Hectoen	Absence des colonies.

III.2 Résultats de dénombrement :

La numération dépend de l'observation macroscopique, puis de la création de colonnes graphiques pour la charge bactérienne étudiée, afin de comparer les unités et d'évaluer la qualité du produit.

III.2.1 Flore mésophile aérobie totale (FTAM) :

La flore mésophile aérobie totale est constituée d'un ensemble de microorganismes variés correspondant aux germes banaux de contamination(37). La FTAM est un bon indicateur de la

qualité globale du produit, et l'ensemencement peut se faire sur divers milieux, il conviendra de choisir le milieu le plus adéquat au type de produit analysé(38).

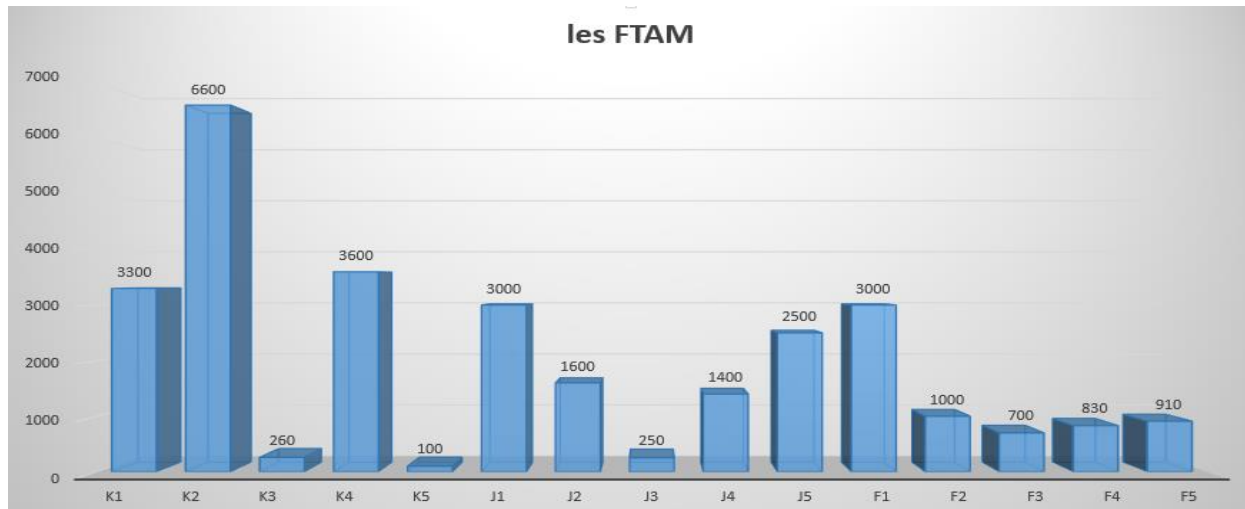


Figure 12: Variation du nombre de la FTAM (Originale, 2023).

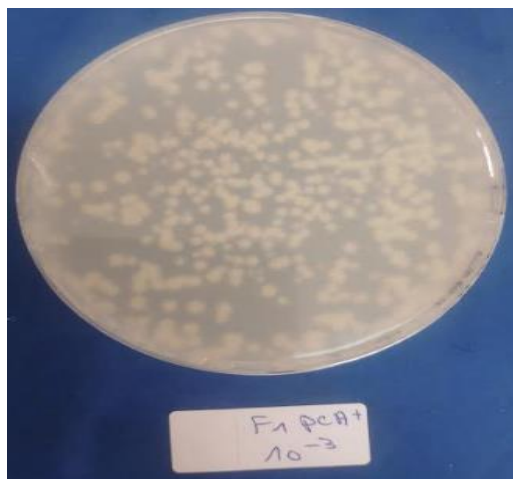


Figure 13: L'aspect macroscopique du milieu PCA au lait écrémé contaminé par la FTAM (Originale, 2023).

III.2.2 Les entérobactéries :

Ce sont des bacilles à G-, mobiles aérobies, anaérobies facultatives, les entérobactéries constituent une famille bactérienne hétérogène regroupant un grand nombre d'espèces. Leur principale particularité commune est d'être présente dans la flore digestive de l'homme et des animaux à sang chaud. Leur distribution dans la nature est néanmoins plus large, puisqu'on les

retrouve notamment chez les végétaux et dans l'environnement. D'autres encore sont utilisées dans les procédés industriels comme la fabrication des fromages (35).

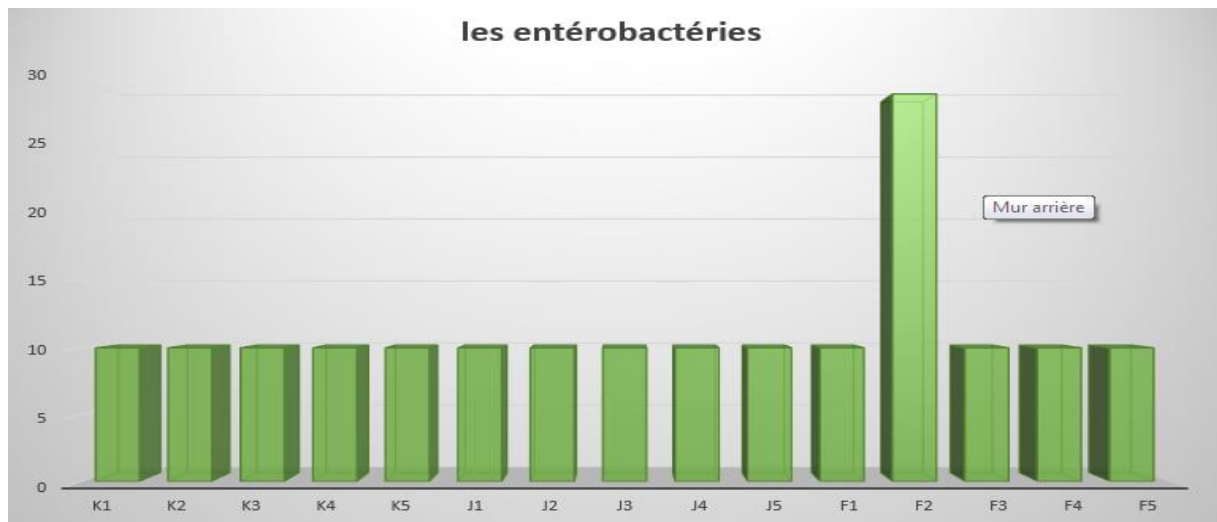


Figure 14: Les variations du nombre des Entérobactériaceae (Originale, 2023).

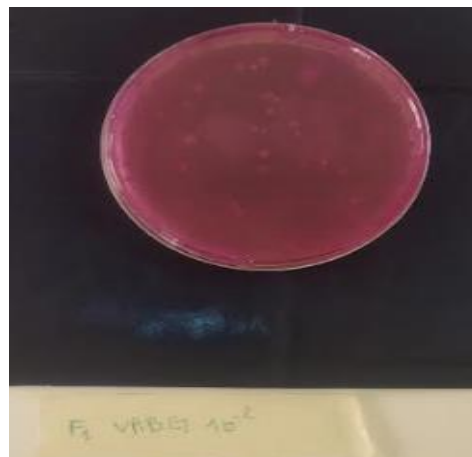


Figure 15: L'aspect macroscopique du milieu VRBG contaminé par des Entérobactériaceae (Originale, 2023).

III.2.3 Les coliformes totaux :

Ce sont des entérobactéries (bacilles à Gram négatifs, asporulés, glucose+, oxydase-, nitrate réductase+, aérobies anaérobies facultatifs) qui fermentent le lactose avec production de gaz (39).

La recherche des coliformes totaux comme microorganismes marqueurs d'une contamination fécale pour les fromages est la plus appropriée (40).

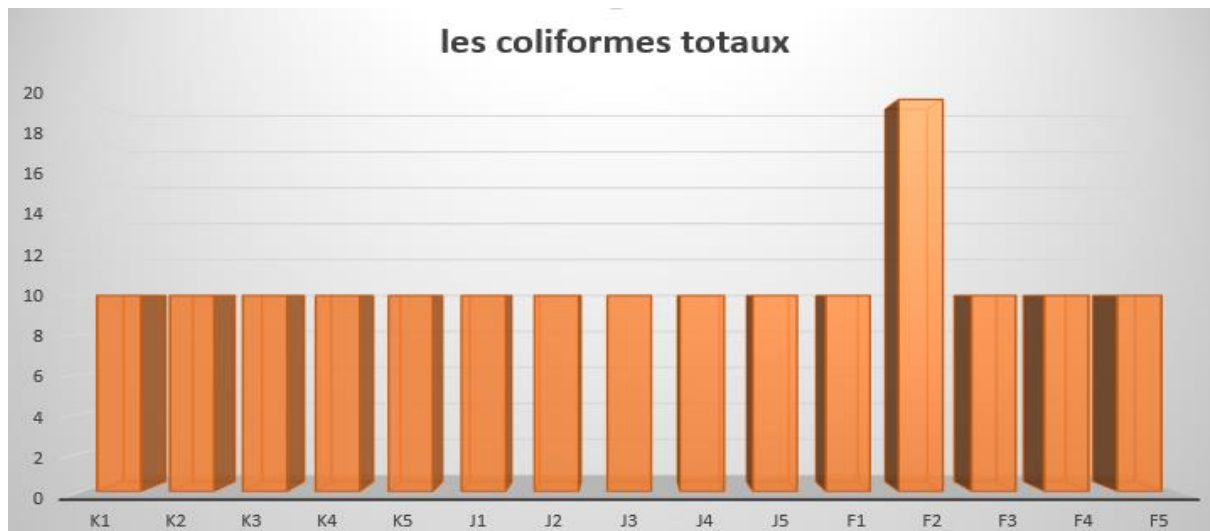


Figure 16: Variation du nombre des coliformes totaux (Originale, 2023).



Figure 17: L'aspect macroscopique du milieu VRBL contaminé par des coliformes totaux (Originale, 2023).

III.2.4 Les staphylocoques à coagulase positive :

Les staphylocoques sont des cocci à Gram positif, immobiles, non sporulés, réunis en amas, aéro-anaérobie facultatifs, catalase positive, Oxydase négative, fermentent les glucides (41). La production de toxines a lieu entre 40 et 48 °C, les colonies ont une couleur facilement reconnaissable, jaune or. La paroi de *S. aureus* joue un rôle majeur dans l'interaction avec l'organisme hôte(35).

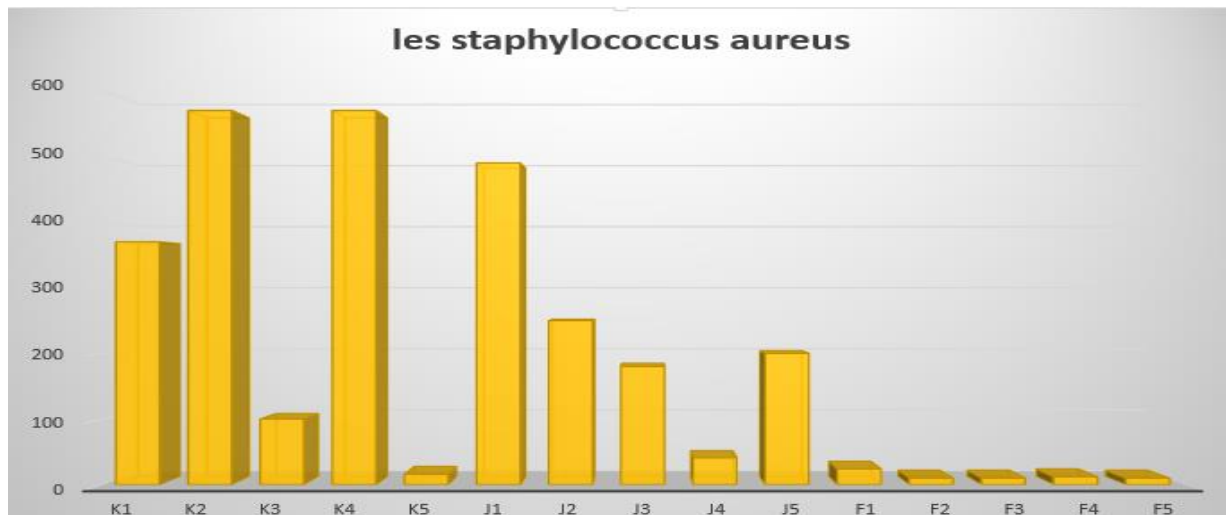


Figure 18: Variation du nombre des staphylocoques à coagulase+ (Originale, 2023).



Figure 19: L'aspect macroscopique du milieu chapman contaminé par des staphylocoques à coagulase+ (Originale, 2023).

III.2.5 *Bacillus cereus* :

Les bactéries du genre *Bacillus* sont des grands bacilles à Gram positif, groupés en chaînettes, sporulant, chimio hétérotrophes et généralement mobiles avec des flagelles péritriches. Ce genre est aérobic, ou parfois facultatif et catalase positive (42). Les *Bacillus* sont responsables de l'altération des produits laitiers, les espèces les plus pathogènes sont *Bacillus licheniformis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, cette altération est due principalement aux activités enzymatiques des souches contaminant les produits qu'elles peuvent introduire des anomalies dans le lait (la coagulation du lait) (43).

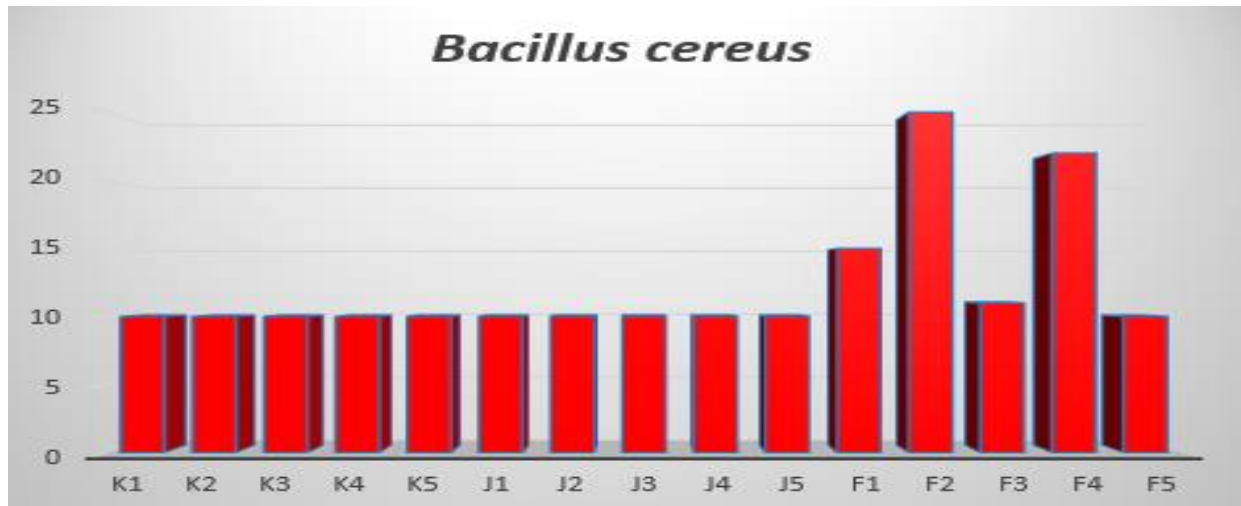


Figure 20: Variation du nombre des *Bacillus cereus* (Originale, 2023).



Figure 21: L'aspect macroscopique du milieu Mossel contaminé par des *Bacillus cereus* (Originale, 2023).

III.2.6 Les moisissures et levures :

Les levures et les moisissures sont des cellules eucaryotes, trouvées aussi bien dans le lait cru, le lait en poudre ainsi que dans tous les autres produits laitiers (44).

Les moisissures intéressent un grand nombre de produits laitiers. Pour leur production de lipases et de protéases. Par ailleurs, des penicilliums sont utilisés pour recouvrir la croûte des fromages à pâte molle d'une « fleur » blanche et pour former des veines de couleur bleue dans les fromages à pâte persillée (45).

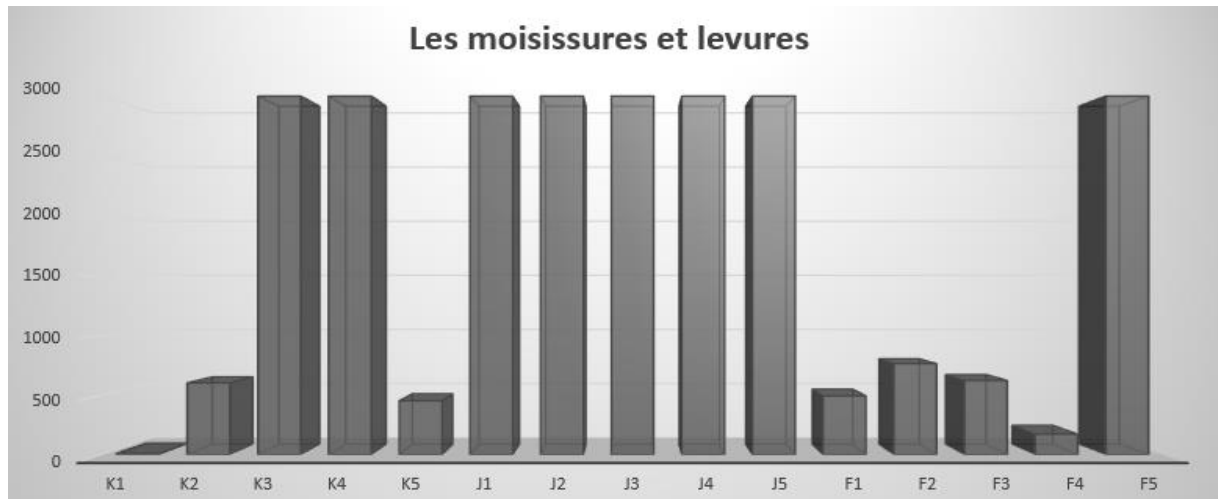


Figure 22: Variation du nombre des levures et moisissures (Originale, 2023).

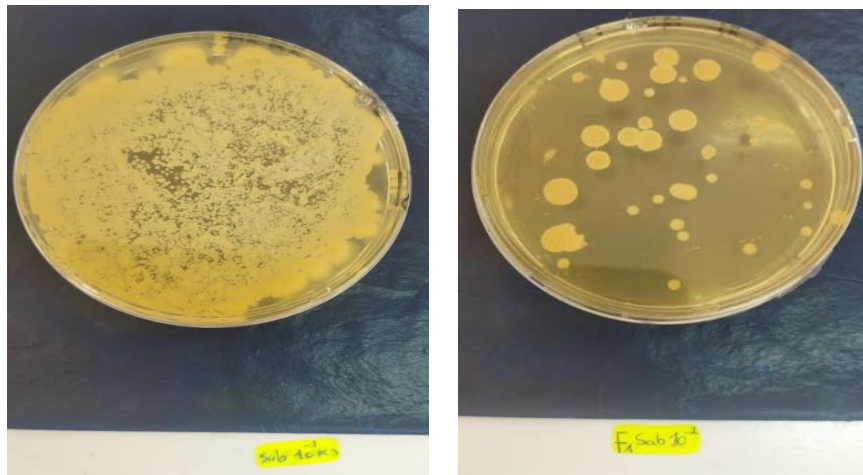


Figure 23: L'aspect macroscopique du milieu sabouraud contaminé par des moisissures et levures (Originale, 2023).

III.3 Le résultat d'examen microscopique :

1. La caractérisation microscopique est basée sur la coloration de Gram.

L'observation microscopique a montré que la plupart des souches de Staphylococque à coagulase+ isolées avaient les mêmes caractéristiques :

- Gram positif.
- En forme de cocci disposés en amas, séparés ou en chaînettes.

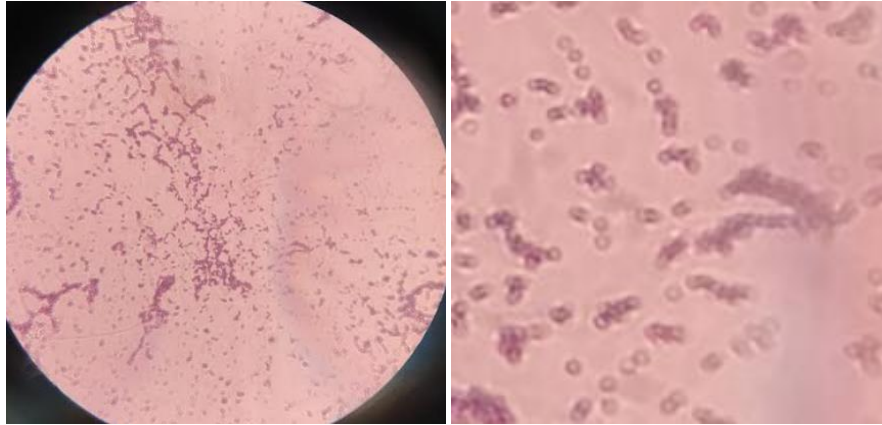


Figure 24: Observation microscopique des staphylocoques à coagulase+ (Grossissement : $\times 100$)(Originale, 2023).

2. L'observation microscopique a montré que les souches isolées pour *Bacillus cereus* ont les mêmes caractéristiques :
- Gram positif.
 - En forme des bacilles disposés en paires ou en chaînettes.

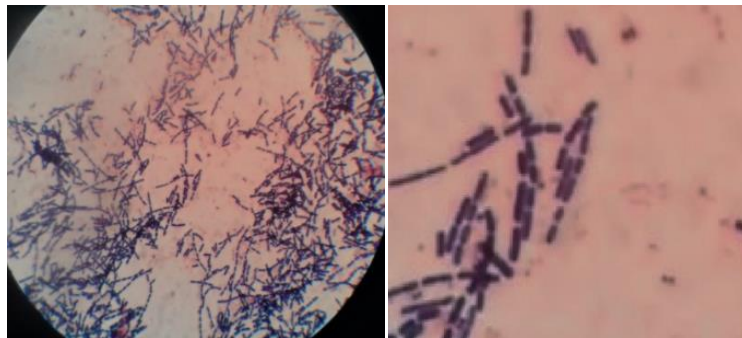


Figure 25: Observation microscopique de *Bacillus cereus*(Grossissement: $\times 100$)(Originale, 2023).

III.4 Le résultat de caractère biochimique :

III.4.1 Résultat de test catalase :

Certaines bactéries ont la faculté de dégrader le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). En présence d'une bactérie productrice de catalase, on observe à partir de l' H_2O_2 une libération d'oxygène gazeux selon la réaction (Denis, 2007) :



Après le test, un résultat positif est apparu dans toutes les souches, avec la remontée de bulles de gaz, indique la présence de catalase.

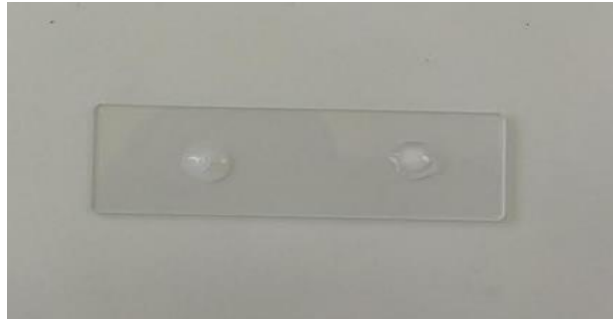


Figure 26: Bulles libérées dans le test de la catalase (Originale, 2023).

III.4.2 Résultat test de DNase :

- Après le processus de test, le résultat était négatif.



Figure 27: Les résultats de test Danse (Originale, 2023).

IV. Discussions :

Sur la base des résultats des analyses microbiologiques que nous avons effectuées sur nos produits. Nous l'avons comparé à des articles similaires pour notre recherche d'évaluation de produits, et la comparaison était la suivante :

IV.1 FTAM :

Les flores aérobies mésophiles totales reflètent la qualité microbiologique générale d'un produit alimentaire et permettent d'en suivre l'évolution. La plupart des aliments d'origine animale ou végétale sont normalement porteurs de certains germes et il est possible de prévoir les types microbiens que l'on va rencontrer(40).

Le numération de la flore aérobique mésophile totale montrent des valeurs entre 6.6×10^3 et 10^2 UFC/g, ces résultats sont significativement inférieurs à ceux trouvés par (46) qui a trouvé des valeurs de l'ordre de 0.3×10^5 UFC/g.

Les différences en flore totale de jben peuvent être dues à la qualité des matières premières, ou la manque de respect des bonnes pratiques de la production (47)

IV.2 Les entérobactéries :

Le comptage des entérobactéries est intéressant pour évaluer de qualité hygiénique globale. Ce groupe de microorganismes peut être considéré comme indicateur de défaut des conditions de manipulation et de fabrication (38).

Nos résultats ont eu de faibles valeurs de charge, toutes les unités ayant des valeurs inférieures à dix bactéries par gramme de produit. A l'exception de l'une unité F2 qui révèle une valeur de 2.9×10 UFC/g .

Nos résultats sont en désaccord avec ceux rapportés par (48) dont le nombre des entérobactéries dans le jben est 4.6×10^5 UFC/g comme valeur maximale.

Ces résultats peuvent être reliés à une série de facteurs, y compris le manque d'hygiène au niveau des fermes (49).

IV.3 Coliformes totaux :

Le dénombrement des coliformes est surtout réalisé dans le cadre de l'analyse des produits laitiers et des aliments transformés (produits pasteurisés) ou il permet de mettre en évidence un défaut de procédé ou de mauvaises conditions de fabrication (contamination)(38).

Tous les résultats des dénombrements ont présenté des charges bactériennes < 10 UFC/g, sauf pour l'unité F2, qui a eu un taux de 2×10 UFC/g.

Ces résultats contredisent avec les travaux de(22), dont la charge en coliformes totaux ont atteint une valeur maximale de 4.3×10^5 UFC/g, dans ses échantillons de jben dans la région Rabat au Maroc.

La contamination par les coliformes se réalise notamment lors de la traite, surtout lorsque les

conditions d'hygiène sont mal appliquées puis se développe pendant la transformation du lait et se réduit lors de l'affinage (50).

IV.4 Staphylocoques à coagulase positive :

Après comparaison avec le J.O.R.A concernant le fromage fabriqué à partir de lait cru, nous avons conclu que tous nos résultats de staphylocoques à coagulase+ sont inférieurs à 10^4 et 10^3 , ce qui indique que le taux de ces bactéries est raisonnable et satisfaisant. (51).

Tous les staphylocoques présents dans les aliments ne sont pas entérotoxiques. Certains auteurs recommandent de les considérer comme organisme indicateurs dans les aliments crus : ils peuvent signaler des contaminations humaines par manipulation ou par voie aérienne, ou une contamination (originale) d'un produit animal (38).

IV.5 *Bacillus cereus* :

Bacillus est très largement répandu dans la nature, il se comporte comme un pathogène opportuniste. Cette espèce est également responsable de toxi-infections alimentaires (52).

Nos résultats ont eu de faibles valeurs de charge, toutes les unités ayant des valeurs inférieures à dix bactéries par gramme de produit. Sauf pour un échantillon avec la valeur la plus élevée de $2,5 \times 10$ UFC/g.

En comparaison avec d'autres études (53), nous avons constaté que nos résultats portent une charge satisfaisante et logique, contrairement à ce que nous avons comparé d'une valeur de $3,6 \times 10^2$ UFC/g.

IV.6 Les moisissures et levures :

Elles constituent une bonne flore indicatrice de la qualité générale, essentiellement pour des produits d'origine végétale (38).

Le dénombrement des levures et moisissures des trois échantillons a donné des seuils entre 3×10^3 UFC/g et < 10 UFC/g. Ces résultats sont moyens par rapport à ceux de (46) qui ont trouvé une valeur de $0,6 \times 10^4$ UFC/g.

La flore fongique peut avoir un rôle important dans la protéolyse, la lipolyse et la désacidification de la masse fromagère, ce sont des flores originales de lait ou due par une contamination (54).

IV.7 *Salmonella spp*:

Les résultats de la recherche des salmonelles ont montré une absence dans tous les échantillons analysés. Donc les produits sont conformes aux normes du (51) qui exige une absence totale de ce pathogène dans les produits destinés à l'alimentation humaine (40).

Les salmonelles sont des germes qui se mettent difficilement en évidence. Ceci peut être une explication possible de cette absence (55).

Conclusion

Conclusion

Conclusion

Les produits laitiers sont une source riche en nutriments qui contribuent à la croissance des organismes vivants, car leur nombre se multiplie rapidement s'ils ne sont pas stockés dans un milieu approprié pour la conservation. Le produit peut être contaminé dès la matière première ou lors de la fabrication, et les conditions d'hygiène peuvent ne pas être respectées.

Le but de cette étude était d'évaluer la qualité microbiologique afin de déterminer si le produit est adapté à la consommation humaine ou animale.

Il y a des groupes qui se développent en grand nombre comme la flore mésophile aérobie totale. Alors que la FTAM est apparu avec une charge moyenne dans tous les échantillons, et sa valeur la plus élevée était de $6,6 \times 10^3$ UFC/g, et sa valeur la plus basse était de 1×10^2 UFC/g, tandis que les entérobactéries a été trouvé avec une charge faible par rapport aux autres microflore. Avec la présence de bactéries pathogènes telles que *Bacillus cereus* et staphylocoques à coagulase positive, ce dénombrement a été suivi de tests biochimiques, mais il a été possible d'effectuer d'autres tests pour améliorer les résultats étudiés.

Enfin, on peut dire que ce produit artisanal est consommable du fait de la présence de bactéries avec des charges acceptables et faibles par rapport aux autres études.

De notre perspective, nous cherchons à l'avenir à rechercher d'autres microflore comme les bactéries lactiques, les streptocoques...etc, ou effectuer d'autres tests de biologie moléculaire ou évaluer un autre produit pasteurisé. Nous espérons également améliorer les procédés de fabrication en appliquant des mesures d'hygiéniques pour le commercialiser.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Références bibliographiques :

- (1) **Benderouich ,B.(2009).**la kémaria:un produit du terroir à valoriser ,mémoire d'ingénieur ,université Kasdi Merbah ,Ouargla ,Algérie.
- (2) **BENKERROUM N et TAMIME A.Y. (2004).**Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (l'ben, j'ben, smen) to small industrial scale. Food Microbiol. 21: pp399–314.
- (3) **Claps S., Morone G. (2011).** Produits laitiers et fromagers traditionnels de l'Algérie. In Développement de la Filière laitière et Fromagère en Algérie, p : 57-77.
- (4) **Ouadghiri M. (2009).** Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés « Lben» et « Jben » d'origine marocaine. Thèse de doctorat de Microbiologie et Biologie Moléculaire.Université Mohammed V. Rabat, Faculté des Sciences,p :132.
- (5) **ALIAS, C.** Science du lait principe des techniques litières.3ème édition. **Paris 1975.**
- (6) **LUQUET, F.M., 1985.** Les produits laitiers, transformation, transformation et technologie. Ed. Technique et Documentation Lavoisier. Tome 2, 633p.
- (7) **RAHLI, F. (2015).**Valorisation du lait de chamelle par exploitation des potentialités technologies des bactéries lactiques isolées localement .Thèse doctorat contrôlemicrobiologique non publiée, Université d'Oran, Oran.
- (8) **Adesiyun. A. A, 1994:**Bacteriologicalquality and associated public healthrisk of pre-processed bovine milk in Trinidad. Int. J. Food Microbiol. 21:253–261.
- (9) **Agabriel et al., 1995)Agabriel C., Coulon J.B., Brunshwig G., Sibra C. et Nafidi C. (1995).**
- (10) **MENAD ,N.(2017).** Effet antagoniste des bactéries lactiques isolées à partir du laitde vache vis-à-vis de Salmonella sp.Thèse doctorat Microbiologienon publiée,Université de Mostaganem, Mostaganem.
- (11) **Fredot. E., (2006).** Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier: 25 (397 p). GHAOUES Souheila,2011.Thèse de

Références bibliographiques

Magister: Evaluation de la qualité physico-chimique et organoleptique de cinq marques

de laits reconstitués partiellement écrémés commercialisés dans l'Algérie.

(12) **Lahsaoui S., 2009** : Etude du Procédé de Fabrication du Fromage Traditionnel « Klila

». Mémoire d'Ingénieur en Agronomie. Université de Batna. Algérie. Pp 13.72p

(13) **TAKAHIRO. M. NOBUHIKO. K. and TOSHINAO .G. (2007)**. Milk consumption does not affect body mass index but may have an unfavorable effect on serum total cholesterol in Japanese adults. *Nutr. Res*, 27: pp395–399.

(14) **Lahsaoui S., 2009** : Etude du Procédé de Fabrication du Fromage Traditionnel

« Klila ». Mémoire d'Ingénieur en Agronomie. Université de Batna. Algérie. Pp

13.72p.

(15) **Mahamedi A.E., 2015** : Etude des qualités hygiénique, physicochimique et microbiologique des ferments et des beurres traditionnels destinés à la consommation dans différentes régions d'Algérie. Mémoire de Magister en Biologie. Université d'Oran. Algérie/

Mechai A, Debabza M, and Kirane D., 2014: Screening of technological and probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional fermented milk products. *International Food Research Journal*

(16) **Benkerroum, N. and Tamime, A.Y . (2004)**. Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (Iben, jben, smen) to small industrial scale. *Food Microbiol.* 21:399–314

(17) **Benkerroum N., Tamime A.Y. 2004**. "Technology transfer of some Moroccan

traditional dairy products (Iben, jben and smen) to small industrial scale." *Food Microbiology* 21:399-413.

(18) **Jeantet R., Croquennec T., Mahaut M., Schuck P., Brule G. (2008)**. Les produits laitiers 2ème édition, tech et doc, Lavoisier. 1-3-13-1417 (185 page).

(19) **Moreno I., Castro A., Delanuez M., Sánchez M.D., Assunção P., Capote J., Argüello A. (2009)**. Farm and factory production of goat cheese whey results in distinct chemical composition. *American Dairy Science Association*, Vol:92.4792–4796.

Références bibliographiques

- (20) **Pilet M.F., Magras C., Federigh M., 2005.** Bactéries lactiques. In :bactériologie alimentaire (Federighi M.). 2e Ed., Economica. Paris. 219-240.
- (21) **Lamontagne, MP., Champagne, J .,Reitz, A ., Sylvain, M., Nancy, G.,Maryse, L., Julie, J., Ismail, F .(2002) .** Microbiologie de lait In. Science ettechnologie de lait;transformationdu lait. Ecole polytechnique de Montréal, pp: 75-128.
- (22) **HAMAMA et M BAY1 (1991)** composition and microbiological profile oftwoMaroccantraditionaldairyproducts:raib and jben',International Journal of DairyTechnology, 44(4),pp. 118-120. Doi : 10.1111/j.1471-0307.1991.tb01921.x
- (23) **LEYRAL, G et VIERLING, E. (1997)** Microbiologie et toxicologie desaliments. Editions Doin, p 54, 55, 81, 82, 82.
- (24) **Jakob, E., Winkler, H et Haldemann, J. (2009).** Critères Microbiologiques Pour La Fabrication Du Fromage. Edition, AgroscopeLiebfeld-Posieux. Groupe de discussions N°77. F. pp : 5-31.
- (25) **Badis, A., Guetarni, D., Kihal, M., Ouzrout, R. (2005).** Caractérisationphénotypique des Bactéries lactiques isolées à partir de lait de chèvre de deuxpopulations locales «Arabia et Kabyle». Scien&Tech, 23 : 30-37 .
- (26) **Stiles M.E. &Holzapfel W., 1997.**Lacticacidbacteria of foods and theircurrenttaxonomy. Int. J. Food Microbiol., 36(1), 1-29.
- (27) **Leveau J.Y. et Bouix M., 1993.** Microbiologie industrielle : lesmicroorganismes d'intérêt industriel. Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 85-87.
- (28) **nancy-université,france,institutnational** polytechnique de lorraine,en vue del'obtention le grade de docteur,(20-9-2007)
- (29) **BOUZAIID, M., CHATOUI, R., LATRACHE, H., & HASIB, A. (2016).**Activité antimicrobienne des souches de bactéries lactiques isolées de viande hachéede dromadaire et du lait cru de vache (Maroc). Microbiol. Ind. San et Environn,10(1),1-12.
- (30) **MDUDUZI, P.(2017).**LacticAcidBacteria and TheirBacteriocins:Classification, Biosynthesis and Applications againstUropathogens: A Mini-Review.Molecules, 22, 2-13. Dans la Food and Drug Administration (FDA)

Références bibliographiques

- (31) **Richard V J. (1990)**. Production de lait cru de bonne qualité bactériologique. *MicrobHyg-alim* 2 (1) pp. 33.
- (32) **Vignola C.L. (2002)**. Science et technologie du lait –Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, ISBN pp. 600.
- (33) **Abdelmalek Y., Gibson I., (1952)**. Studies on the bacteriology of milk, *J, Dairy Res.* P: 19 - 294. Citer par: KABIR Ahmed, 2015. Thèse de Doctorat: Contraintes de la production laitière en Algérie et évaluation de la qualité du lait dans l'industrie laitière (constats et perspectives).
- (34) **NF U47-102. Janvier 2008**. Méthodes d'analyse en santé animale. Isolement et identification de tout sérovar ou desérovar(s) spécifié(s) de salmonelles chez les mammifères.
- (35) Microbiologie hygiène et droit alimentaire 2ème édition **crístian CARIP, Marie-Hélène SALAVERT Armand TANDEAU**.
- (36) **(AFNOR, 1985 et ISO 8261, 1989)**. <https://www.iso.org/fr/standards.html> :
- (37) **(GUIRAUD et ROSEC, 2004). GUIRAUD JP., ROSEC JP., 2004**. Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Ed. AFNOR. 95p.
- (38) **GUIRAUD J. P. (1998)**. Microbiologie des principaux produits alimentaires ; in : «Microbiologie Alimentaire, Techniques de Laboratoire » Dunod, Paris. p261.
- (39) **(Cuq, 2007). Cuq J.L., (2007)**. Microbiologie Alimentaire. Edition Sciences et Techniques du Languedoc. Université de Montpellier. P: 20-25. Citer par: KABIR Ahmed, 2015. Thèse de Doctorat: Contraintes de la production laitière en Algérie et évaluation de la qualité du lait dans l'industrie laitière (constats et perspectives).
- (40) **Guiraud J. P., 2003** : Microbiologie alimentaire. Tec & Doc, Dunod. Paris. Pp351- 464.
- (41) **De Buyser ML, Dufour B, Maire M & Lafarge V (2001)** Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and indifferent industrialized countries. *Int J Food Microbiol* 67: 1–17.
- (42) **Klein, C., Kaletta, C., Entian, K.D., 1993**. Biosynthesis of the lantibiotic subtilin is regulated by a histidine kinase/response regulator system. *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 296e303.
- (43) **(Christieans et Zagorec)(2013). Christieans Souad., Zagorec Monique (2013)**. Flores protectrices pour la conservation des aliments. Editions Quae. p : 52.
- (44) **Alais, C. (1984)**. Sciences du lait. Principes de techniques laitières. 3ème édition, édition Publicité France. 376p.

Références bibliographiques

- (45) **FAO, (2005)**. Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine [Ressourceélectronique] URL.
- (46) **RHIAT MOHAMMED et HICHAM LABIOUI. ABDELHAK DRIOUICH, MAHJOUB AOUANE. YOUNESS CHBAB. ABDELHAK DRIOUICH. ZAKARIA MENNANE et MOHAMMED OUHSSINE.** (2011). Étude bactériologique comparative des fromages frais marocains commercialisés (Mahlabats) et des fromages fabriqués au laboratoire de Biotechnologie, Environnement et Qualité, Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofaïl , BP 133, 14000 Kenitra, Maroc.
- (47) ftam
- (48) **MENASSEL Chahinez 2019**Contrôle de qualité du fromage frais « j’ben » à partir du lait cru de vache UNIVERSITE KASDI MERBAH – OUARGLA FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES.
- (49) **Muehlher J. E, Zweifel C Corti S, Blnco J. E et Stephan R., 2003**, Microbiological quality of raw goat’s andwe bulk-tank milk in Switzerland, J.Dairy.Sci, 86 :38 49-3856.
- (50) **Ricard D. (1998)**. Produits de terroirs et normes de fabrication. Les fromages d’AOC face auxnouvelles exigences sanitaires, *Revue de géographie Alpine*.103-114.
- (51) **J.O.R.A** (Journal Officiel de la République Algérienne N°39 le 08/07/2017)critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires .
- (52) **(Ronner et husmark, 1990).Rönner U., Husmark U. &Henriksson A., (1990):**Adhesion of Bacillus spores in relation to hydrophobicity. J. Appl. Bacteriol.: 69 : 550-556.
- (53) **S. MASSA * (II, G.c. TURTURA *, L.D. TROVATELLI 1998** : Qualité hygiénique du fromage de " fosse"de Sogliano al Rubicone (Italie) 68 (3), 323-332.
- (54) **LEYRAL Guy et VIERLING Elisabeth.(2007)**. Microbiologie et toxicologie des aliments hygiène et sécurité alimentaire .Ed 04. pp 98-90-9.
- (55) **(Dubois et Smoragiewics, 1982).**L’inhibition de quelques bactéries pathogènes et potentiellement pathogènes par Streptococcus lactis, S. thermophilus, Lactobacillus acidophilus et h. helveticus. Le lait, 1982, N° 62. P: 681 – 687.
- (56) **Buyser, M. L et Lapeyre, C. (1994)**. Mammites à staphylocoques et sécurité alimentaire. Le point vétérinaire, 1994, 26, numéro spécial « Ruminants et santé Publique », 79-82.
- (57) **Balzer, L. (1976)**. Biologie des populations humaines. - Paris les presses de Unesco, 147, 21p.

Annexes

Annexes

Annexes 1:

Composition des géloses et bouillons :

Lait au écrémé :

Lait en poudre écrémé	110 g
Eau distillé	1000 ml
Extrait de levure	3 g
Autoclavage 110°C pendant 10 minutes	

Milieu VRBG :

Proptéosepetone.....	12g
Extrait de levure	3g
Saccharose.....	12g
Lactose.....	12g
Salicine.....	2g
Citrate de Fe ⁺³ et d'ammonium.....	1.5g
Sels biliaires.....	9g
Fuchsine acide.....	1g
Bleu de bromothymol	0.065mg
Chlorure de Sodium.....	5g
Thiosulfate de sodium.....	5g
Agar.....	14g
PH final =7.6.	

Milieu VRBL:

Annexes

Peptone pepsique de viande	7.0g
Extrait autolytique de levure	3.0g
Lactose.....	10.0g
Sels biliaries	1.5g
Chlorure de sodium	5,0g
Rouge neutre	30.0g
Cristal violet.....	2.0 g
Agar agar bactériologique.....	12.0 g
PH du milieu prêt-l'emploi á 25°C :7,4±0,2	

Milieu de chapman :

Peptone Bactériologique	10 g
Extrait de Viande de bœuf	1 g
Chlorure de sodium	75 g
Mannitol.....	10 g
Rouge de phénol.....	0.0025 g
Agar.....	15 g

Milieu Mossel :

Dans un litre d'eau distillée ajouter :

Extrait de viande.....	1g
Peptone	10 g
Chlorure de sodium	10 g

Annexes

Rouge de phénol..... 25 mg

Agar... 15 g

pH 7.2 autoclaver 15 minutes à 120 °c , dans une température de 45 °c ajouter à 900 ml de milieu de base en surfusion ,100 ml d'une émulsion stérile de jaune d'œuf à 20% et 10 ml d'une solution de sulfate de polymyxine B à 0.1 % .répartir en boites de pétri (Guiraud ,2003).

Milieu Sabouraud :

Peptone..... 10 g

Glucose... 20 g

Agar-agar 15 g

Eau distillée..... 1000 ml

Milieu Hektoen :

Protéose- peptone 12 g

Extrait de levure50 g

Chlorure de sodium5 g

Thiosulfate de sodium.....5 g

Sels biliaries9 g

Citrate de ferammoniacal..... 1.5 g

Salicine 2 g

Lactose..... 12 g

Saccharose..... 12 g

Fushine acide..... 0.1g

Bleu de bromothymol 65 mg

Annexes

Gélose 13 mg

PH=7,6±0,2

Milieu Nutritive :

Peptone 5,0 g

Extrait de viande..... 1,0 g

Extrait de levure 2,0 g

Chlorure de sodium 50 g

Agar... 15,0 g

Eau peptoné tamponnée

Peptone 10 g

Chlorure de sodium 5,0 g

Hydrogène-orthophosphate disodique Dodécahydratè ($\text{Na}_2\text{HPO}_4, 12\text{H}_2\text{O}$). 9,0 g

Dihydrogène-orthophosphate de potassium (KH_2PO_4)..... 1,5 g

Eau..... 1000 ml

PH 7,0±0,1

EAU Physiologique

Chlorure de sodium 9 g

Eau distillée..... 1000 ml

PH =7,0±0,1

Annexes

Bouillon de Rappaport

Tryptone.....	2,50 g
Peptone pepsique de viande	2,50 g
Peptone papainique 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 agar bactériologique.....	15,00 g
PH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,1±0,2	

Annexes 2:

Les appareils utilisés :



Figure 1 : Bec bunzen.

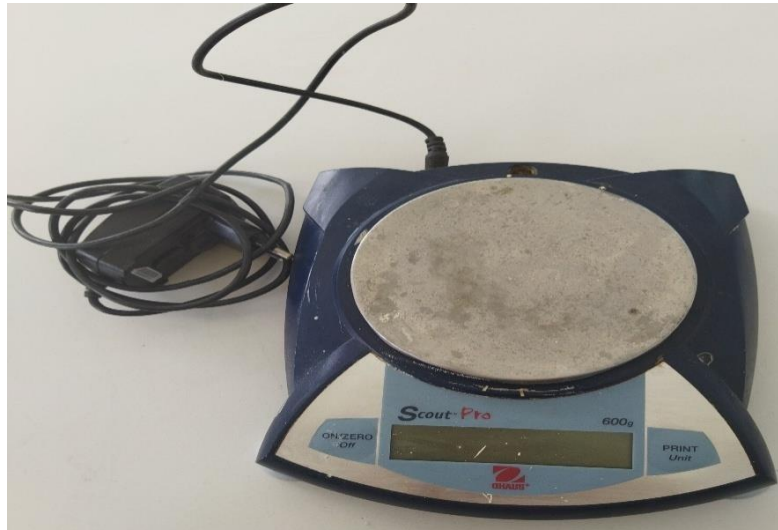


Figure 2 : Balance.



Figure 3 : Vortex.



Figure 4 : Plaque chauffante.



Figure 5 : Bain marie.



Figure 6 : Incubateur.



Figure 7 : Microscope optique.