

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID TLEMCEM
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE DE LA TERRE ET DE
L'UNIVERS

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire, au biomédical et à l'environnement
« LAMAABE »

Mémoire de MASTER

Présenté par

KHATER IMANE
GHEFAR MOKHTARIA

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie
Option : Microbiologie

Dénombrement et caractérisation de la flore lactique et la flore de
contamination du « jben » traditionnel fabriqué par des coagulants de
nature végétale

Soutenu le 03/07/2017
Devant le jury :

Dr. Boublenza L.
Dr. Bellifa S.
Dr. Bendimerad N.

Maître de conférences A
Maître de conférences B
Maître de conférences B

Président
Examinatrice
Encadreur

Année Universitaire : 2016-2017

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



Remerciements

Avant tout. Nous remercions le bon Dieu qui nous a éclairé le chemin et nous donné la patience et le courage pour réalise ce travail.

Nous tenons à adresser nos remerciements à madame : BENDIMERAD Nahida, notre promotrice qui nous a permis de réaliser ce travail dans les meilleurs conditions, et nous sa fait bénéficier de ses compétences scientifique, ses qualités humains et sa constante disponibilités.

Nous sommes aussi reconnaissantes à Madame : BOUBLENZA GHAMBAZA Lamia, d'avoir assuré notre formation et accepté de nous faire l'honneur de présider le jury. Et Madame : BELLIFA Samia pour sa participation au sein du jury. Un remerciement infini

Nous remercions Madame : Boumediene Karima pour ses efforts et son aide.

Nos vifs remerciements à nos familles. Et nos parents pour leur soutien, leur encouragement et leur patiente durant les étapes difficiles de ce travail.

Nous remercions tous nos amis pour sincère amitié et confiance.

En fin, à tous ces intervenants nous présentons nos remerciements, notre respect et notre gratitude.

Dédicace

Je dédie ce mémoire à :



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



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



Mes frères et sœurs, qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.



Mes professeurs, qui doivent voir dans ce travail la fierté d'un savoir bien acquis.



Mokhtaria

Dédicace

Je dédie ce mémoire :



A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, ma vie et mon bonheur que dieu le garde dans son vaste paradis,

Mon père



A la femme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et la source de joie et de bonheur, la flamme de mon cœur, celle qui s'est toujours sacrifiée pour me voir réussir, que dieu la garde pour moi,

Ma mère



Aux personnes qui m'ont énormément aidée et Pour leur soutien morale et leurs sacrifices le long de ma formation,

Mes très chères sœurs et mes frères



A celles qui m'ont toujours aidée, écoutée, soutenue et encouragée tout au long de mon parcours ; celles qui ont toujours été présentes pour moi,

Mes très chères nièces



À ceux qui ont plus particulièrement assuré le soutien affectif de ce travail,

Mes camarades



Imane

ملخص

الجبن، هو الجبن التقليدي و هونوع من القشدة الطازجة، ويصنع في عدة مناطق من الجزائر، من خلال أساليب مختلفة، كما تستخدم "الحكة" كنوع من المخثر التقليدي أو أنواع من الانزيمات النباتية لتخثر الحليب الذي يمكن أن يكون من البقر، الغنم أو الماعز. يباع في بعض الأحيان، وهذا ما جلبنا الدراسة هذا النوع من المنتجات. درست أربع عينات من "الجبن" مصنوعة من حليب البقر الخام باستخدام انزيم أصل نباتي (زهرة خرشوف الشوكي) تخضع هذه العينات لبعض التحاليل الفيزيوكيميائية و الميكروبيولوجيا. بعض الجراثيم الملوثة الموجودة تتصف ظاهريا بالصفائح API 20 E و API STAPH ، النبتة اللبنية هي ايضا تعد في الاوساط التالية M17 و MRS ثم حددت بطرق كلاسيكية .

تظهر التحليلات الفيزيوكيميائية النتائج في المعايير العادية. التحاليل الميكروبيولوجية تشير الى وجود 28 سلالة من البكتيريا اللبنية التي تم تحديدها لأجناس : Lactococcus (6سلالات)، leuconstocs (7 سلالات)، lactobacillus (12 سلالات)، Enterocoques (2 سلالات) و pediococcus (1) البكتيريا التلوث برازي هي موجودة ك les coliformes totaux و les streptocoque fécaux. بكتيريا التغيير هي ايضا متواجدة في عيناتنا مثل : Bacillus ;levurs et moisisseurs

تحديد المظهري للبكتيريا المسببة للأمراض حددت 15 نوع : *Staphylococcus warnei*, *Staphylococcus aureus*, *E.coli*, *Bacillus cereus* et *Pseudomonas aeroginosas*. *Citrobacter brookii* وجود البكتيريا غير المرغوب فيها التي قد تكون الممرضة أو المتلثة يرجع ذلك إلى تلوث الحليب في المزرعة (من الثدي، آلة الحلب، والبيئة) ثم فشل النظافة أثناء تصنيع الجبن .

كلمات المفتاحية : الجبن والجبن التقليدي، التحاليل الفيزيائية والكيميائية و الميكروبيولوجية ،بكتيريا اللبنية ،التحديد

Résumé

Le Jben, est un fromage traditionnel de type pâte fraîche, fabriqué dans plusieurs endroits de l'Algérie, par différentes méthodes, selon qu'ils utilisent « Hakka » un type de présure traditionnelle ou des enzymes de types végétales permettant la coagulation du lait qui peut être, de vache, de brebis ou de chèvre. Il est parfois même commercialisé, c'est ce qui nous amené à étudier ce type de produit.

Quatre échantillons de « J'ben » fabriqué à partir du lait cru de vache en utilisant une enzyme d'origine végétale (fleur de cardon) ont été étudiés.

Ces échantillons subissent des analyses physico-chimiques et microbiologiques. Certains germes de contamination trouvés sont caractérisés phénotypiquement par les galeries API 20^E et API STAPH. La flore lactique aussi est dénombrée sur milieu M17 et MRS puis identifiée par des méthodes classiques en se contenant du genre seulement.

Les analyses physico-chimiques montrent des résultats dans les normes. Les analyses microbiologiques indiquent la présence de 28 souches des bactéries lactiques identifiées aux genres : *Lactococcus* (6 souches), *Leuconostoc* (7 souches), *Lactobacillus* (12 souches), *Enterocoques* (2 souches) et *Pediococcus*(1).

Les bactéries de contamination fécales sont présentes comme les coliformes totaux et streptocoque fécaux, bactéries d'altération existent aussi dans nos échantillons comme *Bacillus*, et les levures et moisissures. L'identification phénotypique des bactéries pathogènes a montrés la présence de 15 espèces : *Staphylococcus warnei*, *Staphylococcus aureus*, *E.coli*, *Bacillus cereus* et *Pseudomonas aeroginosas*. *Citrobacter brookii*

La présence des bactéries indésirables qui peuvent être d'altération ou pathogènes est due à la contamination du lait à la ferme (par les mamelles, machine à traire, environnement) ou alors le non-respect des règles d'hygiène pendant la fabrication du jben.

Mots clé: Jben, fromage traditionnel, Analyses physico-chimiques, microbiologique, bactéries lactiques, identification phénotypique.

Abstract

Jben is a traditional cheese of fresh paste type, made in several places in Algeria, using different methods, depending on whether they use "Hakka" a traditional type of rennet or enzymes of vegetable types allowing the coagulation of milk which May be of cow, sheep or goat. It is sometimes even marketed, which is what leads us to study this type of product.

Four samples of "J'ben" made from raw cow's milk are taken from the Fellaoucen region. These samples undergo physico-chemical and microbiological analyzes. Some of the contamination gases found are phenotypically characterized by the API 20E and API STAPH galleries. The lactic drill is also counted on M17 and MRS medium and then identified by conventional methods. Physico-chemical analyzes show results in the standards. Microbiological analyzes indicate the presence of 28 strains of lactic bacteria identified in the genera: Lactococcus (5 strains), Leuconostoc (7 strains), Lactobacillus (12 strains), Streptococcus (3 strains) and Pediococcus (1). Faecal contaminations are present as E coli and faecal Streptococci and alteration bacteria also like Bacillus, Pseudomonas aeroginosas and yeasts and molds. Among the pathogenic bacteria there is the presence of Staphylococcus warnei, and Staphylococcus aureus this confirms the non-respect of the hygiene rules of the product during its manufacture

Keywords: Jben, traditional cheese, Physico-chemical analysis, microbiological, lactic bacteria, phenotypic identification of pathogenic bacteria.

TABLE DES MATIERES

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....	2
Première partie : Synthèse bibliographique	3
Chapitre I : le lait	4
1. Lait cru de vache.....	4
1.1. Définition du lait.....	4
1.2. Composition physico-chimique du lait.....	4
1.3. Caractéristiques physico-chimiques du lait.....	5
1.4. Microflore de lait.....	6
1.4.1. Flore originale.....	6
1.4.2. Flore de contamination	7
1.4.2.1. Flore pathogène	7
1.4.2.2. Flore psychrophate.....	7
1.5. Les enzymes coagulant le lait.....	7
1.5.1. Protéases d'origine végétale	8
1.5.2. Etude d'une plante utilisée pour la coagulation du lait : Le Cardon.....	9
1.5.2.1. Position systématique	9
1.5.2.2. Description.....	9
1.5.3. Protéases d'origine animale (protéases gastriques)	9
1.5.4. Protéases d'origine microbienne	10
1.5.4.1. Protéases d'origine bactérienne	10
1.5.4.2. Protéases d'origine fongique.....	10
Chapitre II : Produits laitiers traditionnels	11
1. Raib.....	12
2. Lben	12
3. Zebda ou Dhan	12

4. Smen.....	12
5. Klila.....	12
6. Madghissa.....	13
7. Ghaunane.....	13
8. Méchouna.....	13
9. Bouhezza	13
10. Jben	13
10.1. Caractéristiques physico-chimique du jben	14
10.2. Caractéristiques microbiologiques du Jben	15
10.2.1. Flore fongique.....	15
10.2.2. Flore de contamination.....	15
10.2.3. Flore d'altération	16
10.2.4. Les bactéries lactiques	16
10.2.4.1. Streptococcus thermophilus	16
10.2.4.2. Lactococcus.....	17
10.2.4.3. Leuconostocs	17
10.2.4.4. Lactobacilles	18
10.2.4.5. Entérocoques	18
Deuxième partie : Matériel et méthodes	19
1. Échantillonnage.....	20
2. Préparation du « jben »	20
3. Analyse physicochimique	22
3.1. Détermination du poids.....	22
3.2. Détermination du pH.....	22
3.3. Détermination de l'acidité titrable.....	22
3.4. Détermination de l'extrait sec.....	22
3.5. Détermination du taux d'humidité	22
4. Analyse microbiologique.....	23
4.1. Préparation de la solution mère.....	23
4.2. Dénombrement des microorganismes d'intérêt hygiénique.....	23
4.2.1. Germes totaux.....	23

4.2.2. Levures Et moisissures.....	23
4.2.3. Entérobactéries.....	23
4.2.4. Coliformes totaux.....	23
4.2.5. coliformes fécaux.....	23
4.3. Dénombrement des microorganismes à intérêt sanitaire.....	24
4.3.1. Salmonella.....	24
4.3.2. Streptocoques fécaux.....	24
4.3.3. Staphylocoque.....	24
4.3.4. Clostridium.....	24
4.3.5. Bacillus.....	24
4.4. Dénombrement des bactéries lactiques.....	24
4.4.1. Les lactobacilles	24
4.4.2. Les Lactocoques.....	24
4.4.3. Les Leuconostoc.....	25
5. Isolement purification et identification des bactéries.....	25
5.1. Isolement et purification	25
5.2. conservation des souches	25
5.2.1. conservation de courte durée	25
5.2.2. conservation de longue durée	25
5.3. Identification phénotypique des microorganismes de contamination.....	25
5.3.1. Critères morphologiques	25
5.3.2. Critères biochimiques.....	25
5.3.2.1. Test de catalase	25
5.3.2.2. Test d'oxydase	26
5.3.2.3. Type fermentaire.....	26
5.3.3. Plaques l'API20 E et l'API Staph.....	26
Troisième partie : Résultats et discussion.....	27
1. Analyses physico-chimiques	28
2. Analyses microbiologiques	29
2.1. Dénombrement de la flore de contamination.....	29
2.1.1. Flore mésophile totale	29

2.1.2. Levures et moisissures.....	30
2.1.3. Les Entérobactéries	31
2.1.4. Coliformes.....	31
2.1.5. Les Streptocoques fécaux	32
2.1.6. Staphylocoques.....	32
2.1.7. Bacillus.....	33
2.1.8. Clostridium.....	34
2.1.9. Salmonella.....	34
2.2. Dénombrements des bactéries lactiques	34
2.2.1. Lactobacilles.....	34
2.2.2. lactocoques	35
2.2.3. leuconoctocs.....	35
3. Caractérisation des bactéries lactiques	36
3.1. Confirmation des caractères morphologiques et physiologiques des bactéries lactiques.....	36
3.2. Examen macroscopique.....	36
3.3. Caractères microscopique	36
4. Identification des bactéries lactique	37
5. Identification phénotypique des bactéries de contamination.....	39
5.1. Tests biochimiques	40
5.1.1. Test de catalase	40
5.1.2. Tests oxydase	40
5.2. Tests physiologiques.....	40
5.2.1. Test de type fermentaire.....	40
6. Résultat de Plaque l'API20 E et L'API Staph	41
6.1. Caractérisation phénotypique de certaines souches.....	41
Conclusion.....	44
Références bibliographiques.....	46

Liste des abréviations

AFNOR: Association Française de Normalisation

BLBVB : Bouillon lactosé bilié au vert brillant

FAO: Food and Agriculture Organisation

M17: Tarzaghi et sandine

MRS : Man–Rogosa–Sharpe

MRS+V : Man–Rogosa–Sharpe + (voncomycine

NPP : Nombre plus probable

P.C.A : Plate Count Agar

UFC : Unité Formant Colonie

VP : Voges Proskauer.

Liste des Figures

Figure 1. La flore de cordon...	09
Figure2. Produit laitiers traditionnel « Jben ».....	11
Figure3. Jben traditionnel	15
Figure4. Le genre de Streptococcus.....	17
Figure5. Le genre lactococcus.....	18
Figure6. Le genre Leuconostocs	19
Figure7. Le genre Lactobacilles.....	19
Figure8. Le genre Les entérocoques.....	20
Figure9. Diagramme de fabrication.....	23
Figure10. Taux de la flore mésophile totale sur milieu PCA.....	32
Figure11. Taux levures et moisissures dans les quatre échantillons de « Jben ».....	33
Figure12. Taux des Entérobactéries retrouvé dans milieu Mac Conkey.....	34
Figure13. Taux des coliformes totaux sur milieu	35
Figure14. Taux de Streptocoques fécaux trouvé sur milieu Roth.....	35
Figure15. Taux des Staphylocoques retrouvés dans les quatre échantillons de de « Jben ».....	36
Figure16. Taux de Bacillus trouvé sur milieu GN.....	37
Figure17. Taux des lactobacilles sur milieu MRS.....	38
Figure18. Taux des lactobacilles sur milieu M17.....	39
Figure19. Taux des leuconostocs sur milieu MRS+V.....	39
Figure20. Bactéries lactiques sur milieu MRS+V.....	40
Figure21. Observations microscopiques isolées.....	41
Figure22. résultats de test oxydase.....	43
Figure23. Résultats de type fermentaire des souches de MRS+V.....	44
Figure24. Résultats de type homofermentaire des souches M17.....	44
Figure25. Résultats de type hétéro fermentaire des souches MRS+V.....	44
Figure26. Résultats des galeries API 20 ^E	45
Figure27. Résultats des galeries API Staph.....	45

Liste des tableaux

Tableau 01 : Composition du lait de vache.....	05
Tableau 02 : Caractéristiques physico-chimiques du lait de vache.....	06
Tableau 03 : Origine de différentes enzymes utilisées pour coaguler le lait.....	08
Tableau 04 : Valeurs physico-chimiques des quatre échantillons.....	31
Tableau 05 : Caractérisation des bactéries lactique.....	41
Tableau 06 : Caractérisation des bactéries pathogène et d'altération.....	42



Introduction

Le lait est un aliment nutritif pour les êtres humains, indispensable pour le nouveau-né, comme il s'avère très bénéfique pour l'adulte. On peut le consommer à l'état frais ou alors le préserver comme produit laitier industriellement ou traditionnellement.

Notre pays a une tradition bien établie sur les produits laitiers, transmise d'une génération à une autre à travers des siècles. Le lait, abondant durant certains moments de l'année, est facilement périssable et difficile à conserver, singulièrement dans les zones à climat très chaud, alors il a été toujours traité pour augmenter la durabilité et la valeur nutritive pour une consommation domestique et en même temps de permettre la commercialisation du surplus (**Bencharif,2001**).

En Algérie, le lait cru est transformé par des méthodes traditionnelles en produits laitiers comme le «Jben» qui est un fromage frais. Il est fabriqué avec du lait cru de vache ou de brebis, acidifié spontanément et coagulé par des enzymes d'origine végétale issues des fleurs de cardon (*Cynaracardunculus L*), ou d'artichaut (*Cynarascolymus*), ou du latex de figuier (*Ficus carica*) ou des graines de citrouille (**Nouani,2009**). Ou alors par des enzymes coagulantes d'origine animale.

De ce fait, nous nous sommes intéressés à étudier le «jben» fabriqué traditionnellement par des enzymes de type végétal.

Les échantillons ont subi des analyses physico-chimiques et des analyses microbiologiques, tout en recherchant la flore lactique, la flore pathogène et la flore d'altération.

Les flores indésirables ont été identifiées phénotypiquement par des méthodes classiques en utilisant les plaques API20E et API Staph.



Synthèse bibliographique

Chapitre I : LAIT

1. Lait cru de vache

1.1. Définition du lait

Le lait est le produit élaboré par les glandes mammaires des femelles de mammifères après la naissance du jeune. **(Marie et al, 1998).**

La dénomination « lait » est réservée exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale, obtenu par une ou plusieurs traites, sans aucune addition ni soustraction **(Joradp N°69,1993).**

Le lait apparaît comme un liquide opaque, blanc, mat, plus ou moins jaunâtre selon sa teneur en β -carotènes et en matière grasse. Il a une odeur peu marquée mais reconnaissable. **(Cniel, 2006)**

La dénomination "lait" sans indication de l'espèce animal de provenance, est réservée au lait de vache. Le lait est alors le produit de la sécrétion mammaire normale, obtenu par une ou plusieurs traites, sans aucune addition ou soustraction **(Université Libre de Bruxelles - Cudec –2005).**

1.2. Composition physico-chimique du lait

De manière générale, le lait comprend quatre types de constituants importants que sont : les lipides, constitués essentiellement de graisses ordinaires (triglycérides), les protides (caséine, albumine et globuline), les glucides, essentiellement le lactose, et les sels. Mais de nombreux autres constituants sont présents en quantité minime comme les vitamines, les enzymes, les nucléotides, et du gaz dissous; dont certains ont une grande importance du fait de leur activité biologique. Cette composition varie selon différents facteurs liés généralement animaux. Les principaux sont : l'individualité, la race, les périodes de lactation, l'alimentation, la saison, l'âge et l'espèce **(Vignola,2002).**

Tableau 01 : Composition du lait de vache (Vignola, 2002).

Constituants majeurs	Variations limites(%)	Valeurs moyennes(%)
Eau	85,5-89	87,6
Matières grasses	2,4-5,5	3,7
Protides	2,9-5,0	3,2
Glucides	3,6-5,5	4,6
Minéraux	0,7-0,9	0,8
Constituants mineurs	Vitamines, Enzymes, Pigments	Cellules diverses, gaz

1.3. Caractéristiques physico-chimiques du lait

Les principales propriétés physico-chimiques du lait sont représentées par sa densité, son point de congélation, son point d'ébullition et son acidité.

Sur le plan physique, c'est à la fois une solution (lactose, sels minéraux), une suspension (matières azotes) et une émulsion (matières grasses). Son pH est légèrement acide (compris entre 6.5 et 6.8 pour le lait de vache et entre 6.2 et 6.82 pour le lait de chèvre). Par contre, il est légèrement basique pour le lait humain (compris entre 7 et 7.5), l'acidité du lait augmente avec le temps suite à la transformation du lactose en acide lactique. Cette acidité permet d'avoir un indicateur du degré de conservation. Pour cela, on utilise le degré Dornic (°D) (Hebboul *et al*, 2005 ; Dillon, 2008).

Tableau 02 : Caractéristiques physico-chimiques du lait de vache (F.A.O, 1998).

Constantes.	Moyennes	Valeurs extrêmes
Energies (Keal/litre)	701	587-876
(MJ/litre)	2930	2454-3662
Densité du lait à 20°C	1,031	1,028-1,033
Densité du lait écrémé	-	1,036
Densité du la matière grasse	-	0,954-0,96
pH à 20°C	6,6	6,6-6,8
Acidité titrable(Dornic)	16	15-17
Point de congélation (°c)		(0,520)-(0,550)
Viscosité du lait entier à 20° (centpoises)	2,2	-
Viscosité du lait entier à 25°C (centpoises)	1,8	1,6-1,2
Viscosité du lait écrémé à 20° (centpoises)	1,9	-
Point d'ébullition	-	100,17-100,15

1.4. Microflore de lait :

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

Le lait dans les cellules du pis est stérile (**Tolle, 1980**), mais la glande mammaire, la peau du pis, le matériel de traite, la litière, la qualité de l'air et les pratiques des éleveurs sont des sources de contamination (**Ménard et al, 2004**).

Le lait cru peut être contaminé par différents microorganismes avant, pendant et après la traite (**Betsi et al, 1997**) in (**Chaouch et Tebichek, 2001**).

1.4.1. Flore originale

Lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, le lait contient essentiellement de germes saprophytes du pis et des canaux galactophores : Microcoques, Streptocoques lactiques et lactobacilles (**Guiraud, 1998**).

1.4.2. Flore de contamination

1.4.2.1. Flore pathogène

Elle présente un danger pour le consommateur c'est le cas de : *Mycobacterium bovis*, *M. tuberculosis*, *Bacillus cereus*, et des genres de *Brucella* et *Salmonella* (**Fukushima et al., 1984 in Bourgeois et al., 1996**).

1.4.2.2. Flore psychrophile

Il s'agit essentiellement de : *Acinetobacteres*, *Pseudomonas* et *Flavobacterium* qui se développent à une température de 3 à 7°C (**Hicks et al., 1985; Jooste et al., 1985 in Leveau et Bouix, 1993**). *Listeria monocytogenes* un microorganisme psychrotolérant est capable de se multiplier aussi à une température comprise entre 0°C et 10°C (**Rosset, 2001**).

1.5. Les enzymes coagulant le lait

La présure et d'autres protéases sont des enzymes capables de coaguler le lait. Elle peuvent être de différentes origines : animale (**Garnot et Martin, 1980 ; Eck et Gillis, 1997**), végétale (**Gutfeld et Rosenfled, 1975**), microbienne (**Fotmann, 1981 ; Eck et Gillis, 1997 ; Vierling, 2003 ; Scriban, 1999**), et fongiques (**Mietton, 1991**).

Tableau 03 : Origine de différentes enzymes utilisées pour coaguler le lait (Mietton, 1991):
Sont représenté dans le tableau suivant (tableau 03) :

Origines		Enzymes
Animaux	Ruminants	Chymosine+pepsine
	-Veaux	
	-Agneaux	
	-Chevreaux	
	-Bovis Adultes	Chymosine+pepsine
	Monogastrique	Pepsine
	-Porcs	
	Oiseaux	
-Poulets	Pepsine	
Végétaux	Figuier (suc)	Ficine
	Ananas (tige)	Broméline
	Chardon, artichaut	Cardosine
	Gaillet	Cyprosine
	Courge	
Moisissures	<i>Endothia parasitica</i>	Protéase
	<i>Mucor meihei</i>	Protéase
	<i>Aspergillus niger</i>	Protéase
Levures	<i>Kluyveromyces lactis</i>	Protéase
		Chymosine
Bactéries	<i>Echerichia coli</i>	Chymosine
	<i>Bacillus subtilis</i>	Subtiline

1.5.1. Protéases d'origine végétale

Il existe plusieurs préparations coagulantes provenant du règne végétal. Elles sont extraites par macération de divers organes de plantes supérieures. Parmi les espèces connues on peut citer le gaillet, l'artichaut, le chardon qui ont été utilisés jadis dans des fabrications de fromages fermiers au Portugal et en Espagne (Rao *et al.*, 1998 ; Sousa et Malcata, 2001 ; Silva et Malkata, 2005). D'autres extraits coagulants ont été obtenus à partir de plantes tropicales, les plus connus sont la ficine, extraite du latex de figuier, la papaïne, extraite des feuilles de papayer, la broméline, extraite de l'ananas. Ces protéases contrairement aux

autres enzymes coagulants appartiennent au groupe de protéases sulphydryls (**Yamamoto, 1975 ; Rao et al, 1998**).

D'une manière générale, ces diverses préparations végétales ont donné des résultats assez décevants en fromagerie car elles possèdent le plus souvent une activité protéolytique très élevée qui induit des pertes dans le rendement fromager et le développement de goût amère au cours de l'affinage.

Toutefois, la purification des extraits de ficine a pu être réalisée et des fromages corrects ont été fabriqués à l'aide de ces préparations purifiées (**Ramet, 1997**). Cependant, le coût élevé de la collecte de la matière première et celui de la purification restent un facteur limitant à leur utilisation.

1.5.2. Etude d'une plante utilisée pour la coagulation du lait : Le Cardon



Figure 01 : le cardon (www.berthomeau.com).

1.5.2.1. Position systématique

Ordre : Astérales

Familles : Astéraceae

Genre : Cynara

Espèce : Cynara cardunculus

1.5.2.2. Description

Le terme « cardon » a été emprunté au provençal, du latin cardo-onis, chardon. C'est une forme très voisine de l'artichaut, qui fut parfois classé dans une espèce différente (*Cynarascolumus*), mais qui est désormais considéré comme une forme de (*Cynaracardunculus* L), (*subsp. Carduculus*). On dit même que du genre cynara on connaît deux espèces la carduculus (cardon) et la scolymus (artichaut). (**Koubaa et Damak, 2003**)

1.5.2.3. Protéases d'origine animale (protéases gastriques)

Les enzymes coagulants d'origine animale sont des protéases gastriques. Les plus employés sont la présure constituée principalement de chymosine et de pepsines (bovine, porcine et de poulet). Ces protéases sont formées à partir d'un précurseur (zymogène), secrété par la muqueuse gastrique. (**Richter et al. 1998**).

1.5.3. Protéases d'origine microbienne

1.5.3.1. Protéases d'origine bactérienne

De multiples espèces de bactéries ont été étudiées pour la coagulation notamment le genre *Bacillus* tels que *Bacillus cereus*, *Bacillus polymyxa*, *Bacillus subtilis* et *Bacillus coagulans*, et le genre *Pseudomonas*. Les résultats ont été en général décevants en raison de l'activité protéolytique généralement très élevée de ces protéases par rapport à celle de la présure, comme la protéase de *Bacillus cereus* qui dégrade rapidement la caséine entière. (**Ernstrom et Wongt, 1983 ; Ramet, 1997**).

1.5.3.2. Protéases d'origine fongique

Les enzymes d'origine fongique, contrairement à celles d'origine bactérienne, ont donné des résultats meilleurs, souvent comparables à ceux obtenus avec la présure ; les préparations commerciales employées actuellement proviennent des moisissures suivantes : *Cryphonectria parasitica*, *Rhizomucor pusillus* et *Rhizomucor miehei*. (**Rao et al., 1998**). La protéase de *Cryphonectria parasitica* a été étudiée et testée dans plusieurs types de fromage. Elle a donné des résultats variables.

Chapitre II : Produits laitiers traditionnels

Les produits laitiers fermentés traditionnellement ont une part très importante dans l'alimentation quotidienne des gens de différents pays. En effet, ils ont fait l'objet de plusieurs études, au Maroc (**Ouadghiri et al., 2009**), en Roumanie (**Zamfir et al., 2006**), au Liban (**Chammas et al., 2006**), en Egypt (**El-Baradei et al., 2008**), au Burkina Faso (**Aly Savadogo et al., 2004**), au Kenya (**Mathara et al., 2004**), en Afrique du sud (**Beukes et al., 2001**) etc. Généralement, les gens qui vivent à la campagne possèdent leurs propres vaches, chèvre ou brebis, ils utilisent le lait pour produire la crème et le fromage pour leurs propres besoins.

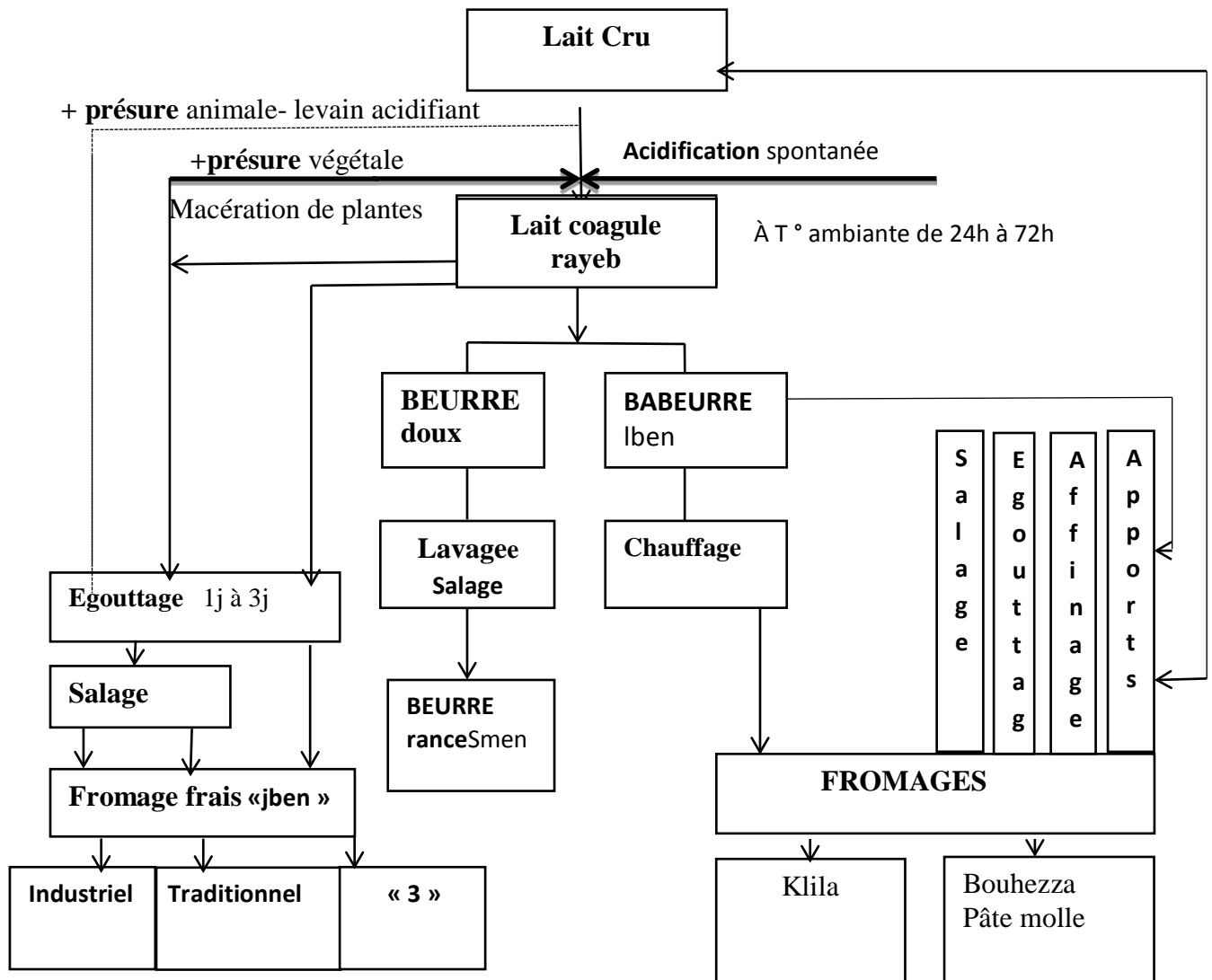


Figure02 : schéma des méthodes de fabrication des principaux produits laitiers algériens (Lahsaoui, 2009 modifié in Bendimerad. 2013).

1. Raïb

Fait partie des produits laitiers fermentés populaires en Algérie. Le « Raïb » a une très ancienne tradition en Algérie. Il est fabriqué à partir du lait cru de vache ou de chèvre. La fermentation du lait, comme de nombreux procédés traditionnels de fermentation, est spontanée et incontrôlée et pourrait être une source précieuse des bactéries lactiques autochtones (**Mechai et Kirane, 2008**).

2. Lben

L'origine de ce produit remonte à des temps immémoriaux, probablement à l'époque où l'homme a commencé à domestiquer les espèces laitières et à utiliser leurs laits. Sa fermentation lactique lui donne son arôme naturel et sa saveur inimitable. Sa préparation artisanale est simple, le lait est abandonné à lui-même jusqu'à sa coagulation. Celle-ci se fait à température ambiante et dure 24 à 48 h selon la saison. Le barattage qui lui succède dure 30 à 40 minutes. A la fin du barattage, on ajoute généralement un certain volume d'eau (environ 10 % du volume du lait), tiède de façon à ramener la température de l'ensemble à un niveau convenable au rassemblement des grains de beurre, le beurre est enlevé, on obtient alors le lben (**Ouadghiri, 2009 ; Benkerroum et Tamime, 2004**).

3. Zebda ou Dhan

C'est du beurre frais obtenu après barattage du lait fermenté appelé « Rayeb », une quantité d'eau tiède (40-50°C) est ajoutée à la fin du barattage pour favoriser l'agglomération des globules gras et l'augmentation du rendement, Lors du barattage mécanique, les globules gras flottent à la surface du « Lben » ils sont séparés par une cuillère perforées, le beurre frais obtenu a une forte odeur du diaceryl, est possède une consistance molle à cause de la forte teneur en eau (**Tantaoui et Elmarakchi, 1997**).

4. Smen

L'excès du beurre produit est transformé en beurre rancie appelé « Smen » pour la préservation, le beurre frais est lavé dans une eau tiède, puis cette eau est remplacée par une saumure, l'opération est répétée jusqu'à l'obtention d'une eau claire ce qui indique que le beurre est dépourvu de Lben résiduel, le beurre après est salé (8-10g/100g) puis conditionné (**Hadj Aissa, 2011**).

5. Klila

La klila est préparée à partir du « Lben » chauffé sur feu doux pendant 12 minutes environ pour favoriser la séparation du caillé et du lactosérum et accélérer le processus d'égouttage. Le lait caillé est égoutté dans un tissu fin. La klila peut être consommée à l'état frais ou additionnée à certains plats traditionnels après avoir été coupé en petits cubes et séchés au soleil (**Touati, 1990**).

6. Madghissa

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

7. Ghaunane

Fromage fabriquée en Kabylie à partir du colostrum, la préparation se fait dans des ustensiles en terre cuite enduits d'huile d'olive dans lesquels est versée une petite quantité d'eau salée, puis le lait est chauffé et coagulé. Le caillé formé est découpé puis consommé tel quel. (**Agroligne, 2001 in Lahsaoui, 2009**).

8. Méchouna

Il est fabriqué à partir du lait cru qui est chauffé jusqu'à ébullition. Ensuite, on ajoute du lait fermenté L'ben ou Rayeb et du sel. A l'aide d'un tissu perforé le mélange est laissé égoutter. Il est consommé frais seul ou avec une galette (**Lemouchi., 2008**).

9. Bouhezza

Ce type de fromage est répandu dans le territoire de l'Aurès (zone Chaouia). Il est fabriqué à partir de lait de chèvre, de vache ou de brebis baratté et écrémé (Lben) (Touati, 1990 et Hallal, 2001).

Le salage l'égouttage et l'affinage du « Bouhezza» sont réalisés simultanément dans une outre, « Chekoua », préalablement traitée aux tannins pendant 3 à 4 mois. Au cours de la période d'affinage, du sel et du « L'ben » seront ajoutés au contenu de la « Chekoua». Au stade de la consommation le fromage est pétri avec incorporation de poudre de piment rouge, ce qui lui donne une caractéristique particulière. (Hadj Aissa., 2011).

10. Jben

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

le fromage frais « Jben» ne présente pas de caractéristiques définies à cause des méthodes artisanales utilisées pour sa préparation reposant, essentiellement, sur les connaissances acquises à partir d'une longue expérience (Salmeron *et al.*, 2002).

Traditionnellement, il est fabriqué avec du lait cru de brebis de chèvre ou de vache acidifié spontanément et coagulé par des enzymes coagulantes d'origine végétale issues des fleurs de cardon (*Cynaracardunculus L*), ou d'artichaut (*Cynarascolymus*), ou du latex de figuier (*Ficus carica*) ou des graines de citrouille (Nouani,2009).

Il est fabriqué aussi par des enzymes coagulants d'origine animale qui sont des protéases gastriques : la présure est constituée principalement de chymosine et de pepsine.



Figure 03 : Jben traditionnel (www.darna.over-blog.com)

10.1. Caractéristiques physico-chimique du jben

Les Caractéristiques physico-chimiques du fromage dépendent de celles du lait cru qui à son tour dépend de la race des animaux et leur type d'alimentation (**Poznanski et al., 2004**).

D'après les travaux de **Ennahdi, (1980);Hamama et Bayi, (1990)**, le jben est caractérisé par une acidité titrable relativement élevée (en moyenne 1,04% d'acide lactique) et un pH faible (4,2 en moyenne), ce qui témoigne de la présence d'une fermentation lactique active.

Les valeurs de composition physico-chimique du jben, ne sont que des moyennes. En réalité, il existe des variations, significativement importantes de composition, d'un producteur à l'autre. Ces variations sont souvent inhérentes aux procédures différentes de préparation du jben. (**Dubeuf, 1996**).

10.2. Caractéristiques microbiologiques du Jben

La microbiologie du Jben est principalement dominée par la flore lactique .Les trois groupe lactique formant cette flore sont rencontrés à des proportions presque égales : $5,1.10^8$ UFC/g de lactocoques ; $3,2.10^8$ UFC /g de lactobacilles et $2,6.10^8$ UFC/g leuconostocs (**Dubeuf, 1996**).

Parmi les lactococcus isolés du jben, on trouve surtout les deux variétés de l'espèce *Lactococcus lactis* (*L.lactis lactis* et *L.lactis diacetylactis*).*Lactobacillus casei* prédominant parmi les lactobacilles et *Leuconostoc lactis* parmi les leuconostocs.

De ce fait, les 4 espèces mentionnées ci-dessus peuvent donc être considérées comme les principales espèces responsables des caractéristiques sensorielles majeures du jben. **(Dubeuf, 1996).**

10.2.1. Flore fongique

La flore fongique est particulièrement nombreuse dans le jben du nord ($9,4 \cdot 10^6$ UFC/g) contre seulement $3,0 \cdot 10^4$ UFC/g dans le jben des régions centrales. Cette richesse est liée à une exposition prolongée du jben des régions du nord à l'air durant l'égouttage, ce qui favorise les contaminations par les spores qui se développent, généralement bien, dans les produits fermentés **(Dubeuf, 1996).**

Le jben du nord contient beaucoup moins de coliformes ($2,0 \cdot 10^3$ UFC/g) que celui du centre ($4,3 \cdot 10^5$ UFC/g). Ceci est, probablement en relation avec le salage du jben du nord qui est défavorable au développement des coliformes. Le taux des entérocoques est sensiblement similaire dans les deux types de jben ($2,4 \cdot 10^5$ UFC/g en moyenne) **(Dubeuf, 1996).**

10.2.2. 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 de type C.

10.2.3. Flore d'altération

Ce sont des microorganismes indésirables apportés par la contamination. Cette flore regroupe les bactéries thermorésistantes, les coliformes, les psychrotolérantes, les levures et moisissures **(Abdessalam., 1984).**

10.2.4. Bactéries lactiques

La microflore du « Jben » marocain est dominée par les bactéries lactiques (108-109 ufc/g) qui sont principalement représentées par *L. lactis subsp. lactis*, *Leuc. Mesenteroides subsp. lactis* et *Lact. Casei subsp. Casei* (**Hamama, 1997**).

La flore lactique est utilisée en industrie laitière, sous forme de ferment ou levain pour la fabrication de produits laitiers fermentés. L'intérêt technologique des bactéries lactiques réside dans la production de l'acide lactique par la fermentation du lactose. La production d'acide lactique, en faisant baisser le pH, provoque une déstabilisation progressive de la dispersion micellaire, ce qui rend le lait de moins en moins stable aux traitements thermiques et peut entraîner sa coagulation, même à température ambiante. Lors de la fermentation, en plus de l'acide lactique, certaines bactéries lactiques produisent du gaz carbonique ainsi que divers composés qui contribuent à l'arôme des produits laitiers. Par leur production d'enzymes protéolytiques, les bactéries lactiques contribuent à l'affinage des fromages. Les bactéries lactiques forment un groupe très hétérogène. Elles ont en commun les caractères suivants :

Gram +, catalase-, de forme cocci ou bacille, micro-aérophiles ou anaérobies facultatifs.

Ils sont peu ou pas protéolytiques dans le lait (**Micanel et al., 1997**).

10.2.4.1. *Streptococcus thermophilus*

Appartenant à la famille des *streptococcaceae*, Les espèces de ce genre sont des cellules, sphériques, allongées en fuseaux en paires ou en chainettes les streptocoques lactiques se distinguent par leur capacité de croître à 45°C (**Garavie et farrow, 1986**).

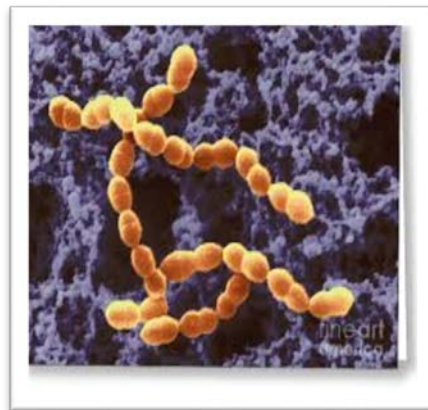


Figure 04 : Les *Streptococcus thermophilus* (www.microbiologiemedicale.fr).

10.2.4.2. Lactococcus

Le groupe de lactocoques correspond aux streptoques mésophiles de la flore lactique. Elles sont généralement micro aérophiles et se développent à 30°C. La fermentation des sucres est homolactique et donne de l'acide lactique comme produit final.

Les lactocoques peuvent se trouver dans les aliments comme les produits laitiers, elles sont utilisées dans l'industrie agroalimentaire, les espèces les plus importantes sont : *Lactococcus lactis* avec la sous espèce *lactococcus lactis subsp lactis biovardiacetylactis* et l'espèce *lactococcus cremoris* (Stiles et hozapfel, 1997).



Figure 05 : Les Lactococcus (www.mobitec.com).

10.2.4.3. Leuconostocs

Les leuconostoc ont de grandes exigences sur le plan nutritionnel vis-à-vis des vitamines et des acides aminés. Elles sont classées en quatre espèces : *Ln mesenteroides*, *Ln paramesenteroides*, *Ln lactis*. et *Ln oenos*.

Ce genre comporte quelques souches qui ont la faculté de produire, à partir du saccharose, une capsule polysaccharidique épaisse. Elles sont responsables de contaminations et d'altérations de divers produits tels que les boissons acides et sucrés. Elles sont utiles dans certains fromages car elles facilitent leur ouverture par la production de CO₂ (Kihel, 1996).

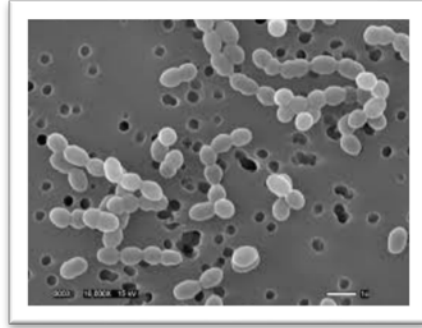


Figure 06 : leuconstocs (www.gettyimage.com).

10.2.4.4. Lactobacilles

Les bactéries appartenant à ce genre sont des bâtonnets souvent allongés, à gram positives, parfois groupés en paires ou en chaîne. Elles sont catalase négatives. Chez les lactobacilles, le métabolisme des sucres produit de l'acide lactique comme produit final se sont des homofermentaires, d'autres produisent, à côté de l'acide lactique, de l'éthanol, du CO₂ et d'acides volatiles se sont des hétéro fermentaires (**Siegumfeldt *et al.*, 2000**).

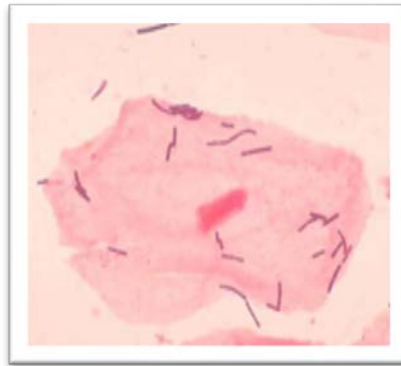


Figure 07 : Lactobacilles (Fr.wikipedia.com)

10.2.4.5. Entérocoques

Les entérocoques sont présents dans les laits et dans de nombreux fromages traditionnels du bassin méditerranéen. Dans les fromages, les niveaux peuvent s'élever jusqu'à 10⁶ufc.g⁻¹ dans le caillé et jusqu'à 10⁷ufc.g⁻¹ dans les fromages affinés. Ces niveaux élevés peuvent s'expliquer par la capacité des entérocoques à se développer en milieu acide et à des taux de sels élevés. Les entérocoques joueraient un rôle dans le développement des caractéristiques.

Sensorielles, des fromages .Certaines souches sont d'ailleurs utilisés comme levains lactiques (Tormo, 2010).

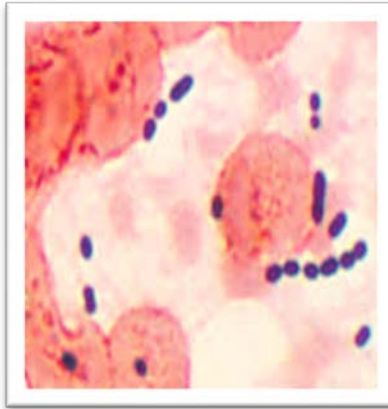


Figure 08 : Les entérocoques (Fr.wikipedia.com)



Matériel et Méthodes

1. Échantillonnage

Par manque de la disponibilité des « jbens » fabriqués traditionnellement, les échantillons étudiés sont des fromages frais qu'on a fabriqué nous même dans la région de Fellaoucen situé à proximité de Nedroma, en présence d'une femme âgée et expérimenté dans la production des fromages traditionnels.

Les échantillons sont transportés dans une glacière .Arrivée au laboratoire, ils sont mis au congélateur en attendant le jour de leur analyse. Pour leur décongélation, les échantillons sont mis au réfrigérateur pendant une nuit.

2. Préparation du « jben »

Deux litres de lait de vache sont mis à chauffer dans un récipient. Les graines de cardon ou d'artichaut sont mis dans un tissu fin et poreux, puis plongées dans le lait de temps à autre pendant son chauffage modéré. Dès l'obtention du caillé, le récipient est retiré du feu et mis de côté pour refroidissement. Ensuite, le caillé est mis dans un tissu propre et poreux pour l'égouttage. Puis le caillé est pressé .Un fois bien égoutté, le caillé est découpé en morceaux et exposé au soleil pour séchage complet. (voir le figure 09)

3- Diagramme de fabrication :

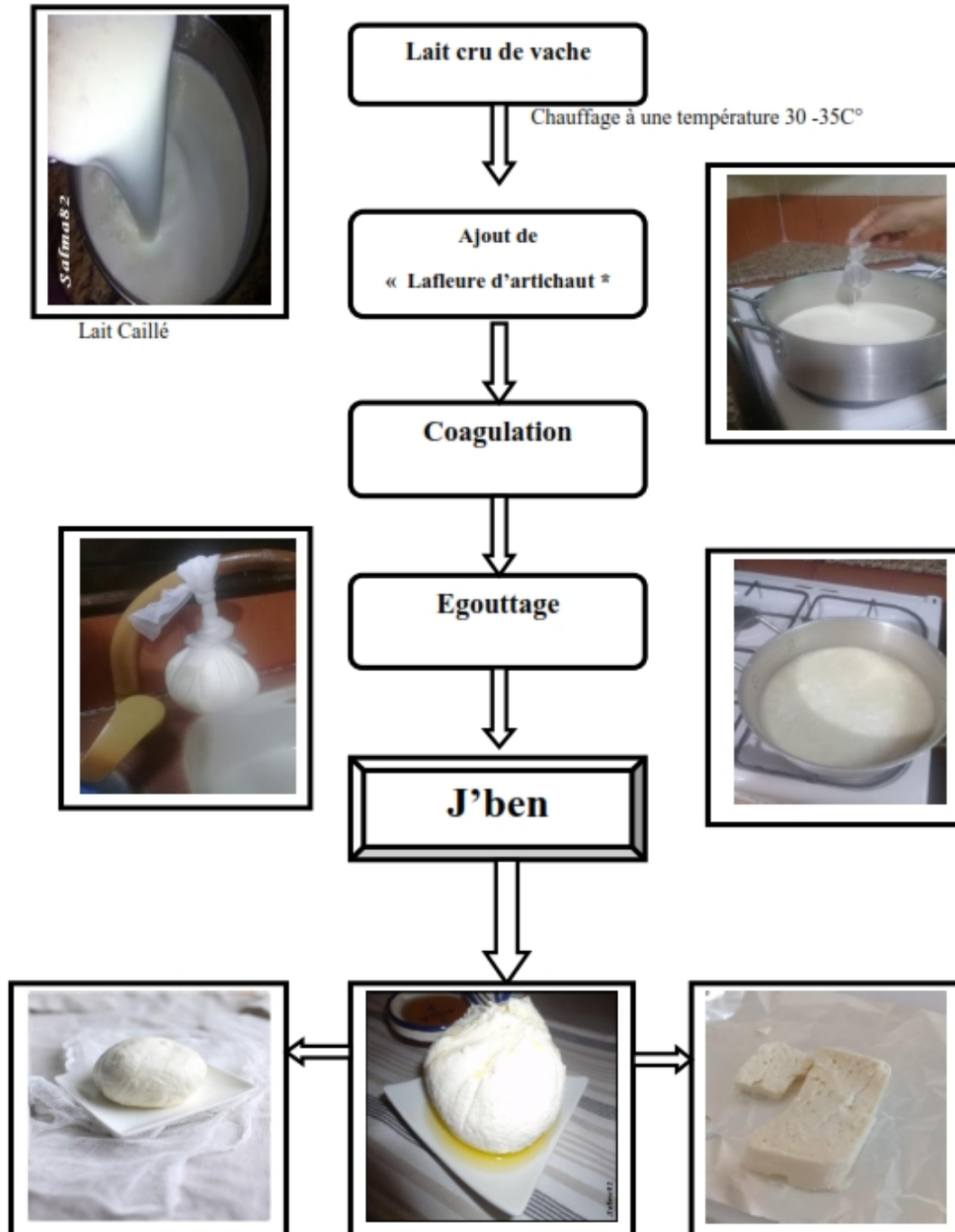


Figure09 : Diagramme de fabrication de « jben »

3. Analyse physicochimique

3.1. Détermination du poids

Après égouttage, le fromage a été mis dans un pot puis pesé à l'aide d'une balance analytique.

3.2. Détermination du pH

10g de Jben est homogénéisé avec 90 ml d'eau distillée. Le pH de l'échantillon est déterminé après une heure en utilisant un pH-mètre numérique où l'électrode est insérée directement dans l'échantillon, trois répétitions sont réalisées (**Owusu-Kwarteng *et al*, 2012**).

3.3. Détermination de l'acidité titrable

L'acidité est mesurée de la manière suivante : A 90 ml d'eau distillée stérile chauffée à une température de 40°C sont ajoutés 10 g de fromage bien homogénéisé, puis 10 ml de cette suspension est titrée par de la soude N/9 en présence de phénol phtaléine. Le résultat est exprimé en degré Dornic par gramme de fromage (°D/g).

- 1 ml de soude correspondant à 10°D
- 1°D correspond à 0.01% d'acide lactique.

3.4. Détermination de l'extrait sec

La méthode consisté à mettre 5 g de fromage dans une capsule d'étuvage placée à l'étuve à une température comprise entre 101 et 105 °C pendant 3 heures jusqu'à séchage Les capsules sont ensuite transférées dans un dessiccateur pendant quelques minutes le temps qu'elles refroidissent et atteignent la température ambiante, puis elles sont pesées de nouveau .Le résultat est calculé selon la formule :

$$\text{EST} = (\text{P3} - \text{P1}) / (\text{P2} - \text{P1})$$

Avec :

- ✓ P1, le poids de la capsule vide
- ✓ P2, le poids de la capsule + du fromage avant étuvage
- ✓ P3, le poids de la capsule plus celui du fromage après étuvage et dessiccation.

3.5. Détermination du taux d'humidité

Le taux d'humidité (Hm) est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Hm} = 100 - \text{EST}$$

4. Analyse microbiologique

4.1. Préparation de la solution mère

25 g de chaque échantillon sont mélangés avec 100 ml d'une solution de citrate de sodium à 2% .Le mélange est homogénéisé à une température de 40-45°C à l'aide d'un vortex. Les dilutions décimales sont préparées en mélangeant 1ml de «jben » avec 9 ml d'eau peptonée stérile à 0,1%.(Lebres et al., 2002).

4.2. Dénombrement des microorganismes d'intérêt hygiénique

4.2.1. Germes totaux

La microflore aérobie totale dénombrée sur milieu PCA .1ml de la dilution est inoculé en profondeur .Les boîtes sont incubée à 30°C pendant 48h. Tous les ensemencements se font en double.

4.2.2. Levures Et moisissures

Sont dénombrés sur le milieu Sabouraud glucosé à 4% et incubé 5 jours à 22°C. A partir des dilutions décimales, 10^{-2} à 10^{-1} , 100 μ l sont portées aseptiquement dans une boîte de Pétri les gouttes sont étalées à l'aide d'un râteau stérile, puis incubées. Dans le souci de ne pas se trouver en face de boîtes envahies soit par les levures soit par les moisissures, des lectures et des dénombrements sont réalisés tous les jours, levures à part et moisissures à part. (Lebres *et al.*, 2002).

4.2.3. Entérobactéries

Pour le dénombrement des entérobactéries 1 ml de la dilution est inoculé en profondeur sur milieu Mac Conkey solide. L'incubation se fait à 24 h à 37 °C.

4.2.4. Coliformes totaux

Pour rechercher les coliformes on utilise le bouillon lactose bilié au vert brillant (BLBVB).Ce milieu est réparti dans des tubes munis d'une cloche de Durham. Neuf tubes sont ensemencés puis incubés à 37 °C .Après 24h, on recherche le nombre le Plus

Probable (NPP) en utilisant la table de Mac Credy. Le NPP trouvé correspond au nombre de coliformes présents par gramme de produit.

4.2.5. Coliformes fécaux

Fait appel au test de Mac Kenzie c'est-à-dire, qu' à partir d'un tube positifs de BLBVB, un autre tube de BLBVB stérile est repiqué et un tube d'eau peptonée exempl d'indole est aussi ensemencé. Si les deux tubes ensemencés sont positifs (montée de la cloche dans le BLBVB et trouble dans l'eau peptonée) on confirme la présence d'E.coli à 44°C.

4.3. Dénombrement des microorganismes à intérêt sanitaire

4.3.1. Salmonella

Recherchée sur milieu solide SS ou milieu hektowen après un pré-enrichissement dans l'eau peptonée tamponné puis un enrichissement dans le bouillon au sélénite de cystéine. L'incubation des trois milieux se fait à 37°C pendant 24h.

4.3.2. Streptocoques fécaux

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

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

4.3.3. Staphylocoque

Staphylococcus aureus est recherché sur milieu Chapman.0.1 ml de la dilution sont ensemencés en surface, puis incubée à 37 °C pendant 24 h à 48h.

4.3.4. Clostridium

Les spores de Clostridia sont recherchés sur gélose viande foie (VF) additionnée d'alun de fer et de sulfite de sodium. Pour tuer la forme végétative 0,5ml de la dilution

10^{-1} et 10^{-2} subissent un traitement thermique à 80 °C pendant 10 min. Les tubes sont refroidit à température ambiante puis 7ml de gélose VF régénéré sont rajoutées aux tubes et incubés 24h à 48h à 44°C. les grosses colonies noir produisant des sulfures à partir du sulfite sont des clostridies.

4.3.5. Bacillus

Les spores de Bacillus sont recherchées sur gélose nutritive. 5ml de la dilution subit un traitement thermique à 80 °C pendant 10 min. Les tubes sont refroidit puis 0.1ml de chaque dilution est ensemence en surface.

4.4. Dénombrement des bactéries lactiques

4.4.1. lactobacilles

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

4.4.2. Lactocoques

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

4.4.3. Leuconostoc

En utilisant la gélose MRS + Vancomycine, 0.1 ml de chaque dilution sont ensemencé en surface puis incubée à 30°C pendant 24 h à 48 h.

5. Isolement purification et identification des bactéries

5.1. Isolement et purification

A partir des milieux MRS, M17, MRS+V, Chapman, Mac Conkey et gélose nutritives, des colonies d'aspects différents sont prises au hasard et ensemencées sur les bouillons MRS, MRS+V, M17, et bouillon nutritives pour les bactéries non lactiques, Le tout est incubé pendant 24h.

S'il ya un trouble dans les bouillons, des passages successifs et alternés bouillon/gélose sont effectuées pour purifier les souches sélectionnées. (Kacem et Karam, 2006, Cheriguene *et al.*, 2007)

5.2. Conservation des souches

La conservation des souches pures a été faite selon deux méthodes : à court et à long terme

5.2.1 Conservation de courte durée

Les souches pures étaient ensemencées dans des tubes de gélose inclinée, après l'incubation à 30°C, les tubes sont placés à +4°C toutes les 04 semaines les souches sont repiquées

5.2.2. Conservation de longue durée

Les isolats purifiés sont conservés dans des tubes Eppendorf en présence du glycérol (30%) est mis au congélateur à -20°C. (Samelis *et al.*, 1994)

5.3. Identification phénotypique des microorganismes de contamination

5.3.1. Critères morphologiques

Les cultures pures sélectionnées vont subir une observation macroscopique sur boîte Pétri suivie d'une observation microscopique sur microscope photonique après avoir réalisé une coloration de Gram.

5.3.2. Critères biochimiques

5.3.2.1. Test de catalase

Ce test consiste à mettre une colonie prélevée du milieu MRS gélosé dans de l'eau oxygénée. Le dégagement de bulles de gaz signifie qu'il y'a production de l'enzyme catalase et que le test est positif.

5.3.3.2. Test d'oxydase

Une colonie pure prise du milieu MRS gélosé est mise sur papier Watman imbibé de réactive oxydase. Le développement d'une couleur bleue signifie que le test est positif et que l'isolat possède l'enzyme cytochrome oxydase.

5.3.3.3. Type fermentaire

Ce test est réservé pour les bactéries lactiques. Les souches pures sélectionnés sont ensemencées sur bouillon MRS, M17 et MRS+V contenant des cloches du Durham, après incubation à 30°C pendant 24h l'absence de gaz dans la cloche montre qu'il s'agit d'un métabolisme homofermentaire par contre le dégagement de gaz indique un métabolisme hétéro fermentaire.

5.3.4. Plaques l'API20 E et l'API Staph

Les plaques portent des micro-tubes qui sont ensemencés par la suspension bactérienne. Après incubation 24h à 37°C, les réactions positives se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs. La lecture se fait à l'aide d'un tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique. Les API 20^E sont utilisés pour les entérobactéries, les API Staph sont utilisés pour les Staphylocoques et Microcoques.

Le mode opératoire consiste à :

A partir d'une culture sur gélose de 24h, une colonie est prélevé est mise dans le medium des plaque pour avoir une suspension bactérienne. A partir de la suspension on remplit les cupules, on créer l'anaérobiose dans les tests soulignés et on remplit les tubes et les cupules dans les tests cadrés, on repartit l'eau distillé dans les trous du fond pour crée une atmosphère humide .On réunit fond et couvercle de la plaque et on incube à37°C pendant 24h



Résultats et Interprétations

1. Analyses physico-chimiques

Le tableau suivant montre les résultats des analyses physico-chimiques obtenu (tableau 04) :

Tableau 04 : valeurs physico-chimiques des quatre échantillons

Echantillon	Ph	Acidité (D°)	Extrait		Humidité (%)
			Sec (%)	total	
Echantillon 01	5.6	70.63	55.92		44.08
Echantillon 02	5.93	40.16	58.76		41.23
Echantillon 03	5.73	20.83	52.09		47.90
Echantillon 04	6.13	20.96	52.35		47.65

Le Jben de l'échantillon 1 est le plus acide alors que celui de l'échantillon 4, il ne présente presque aucune acidité. Ce dernier est le même que le jben cités par **Belyagoubi et Abdelouahid. (2013)**, et qui ont une valeur de 6,38. Comparé aux travaux de **Djoughri et Madani. (2015)**, le jben de la région d'Ouargla ont des valeurs de pH inférieurs à nos valeurs puisqu'elles sont comprises entre 4,5 et 5,4.

Les valeurs de l'acidité Dornic des échantillons 3 et 4 se rapprochent. Celle de l'échantillon 1 est la plus élevée, ce qui est normale puisque son pH est le plus bas. Des études faite par **Rhait et al., (2011)** et **Soussa et Malacata.,(2002)** ;**Rosei et al.,(2003)** ;**Aquilanti,(2011)**. Ont rapporté dans leurs travaux que l'acidité du fromage dépend de la nature et de la composition initiale du lait utilisé pour sa fabrication, l'activité acidifiante est l'une des principale fonctions des bactéries lactiques, les bactéries lactiques provenant des matières premières du lait ou de l'environnement sont responsable de la production d'acide lactique résultant de l'utilisation des hydrates de carbone.

Les échantillons 3 et 4 possèdent presque les mêmes valeurs d'extrait sec et d'humidité, celle de l'échantillon 2 est la plus élevée. Nos valeurs sont comprises entre 52,09% et 58,76 % soit des taux inférieurs à ceux des jben de la région de Mechria cités par **Kerroum. (2016)**.

Selon **Alais(1984)**, le taux d'extrait sec varie d'un type de fromage à un autre, et dépend d'une part de la composition initiale du lait et d'autre part de la manière dont sont effectués la coagulation et l'égouttage. D'après **Nunez et al.,(1991)**, le caillé à base d'extrait de fleurs de cardon sauvages donne lors du découpage, des graines de caillé de taille réduite en comparaison avec un caillé présuré, ce qui explique l'égouttage particulièrement rapide et qui serait la cause de son extrait sec élevé.

Les paramètres physico-chimiques des Jben fabriqués diffèrent d'un produit à l'autre ceci est dû à la méthode de préparation, aux types de lait, à la date de préparation, au stade de lactation et aux types d'alimentation donnée aux animaux. (**Auldist et al.,1998**), (**Ouadghiri, 2009**),

2. Analyses microbiologiques

2.1. Dénombrement de la flore de contamination

2.1.1. Flore mésophile totale

Le taux de flore totale retrouvé sur milieu PCA après 24h à 30°C est représenté dans la figure suivante :

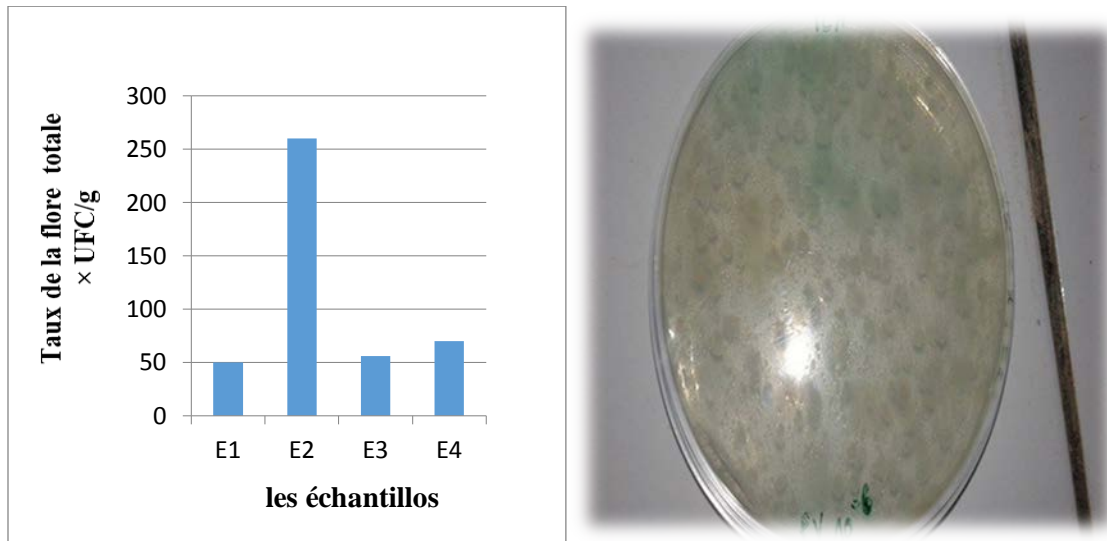


Figure 10 : Taux de flore mésophile totale sur milieu PCA.

Le dénombrement de la flore mésophile totale à 30°C sur milieu P.C.A, montre que le Jben possède une charge microbienne moyenne de $(1,09 \times 10^9 \text{ UFC/g})$. Le Jben « 2 »

possède une charge microbienne de germes totaux beaucoup plus importante que celles des autres échantillons dont leur taux est presque identique.

Nos valeurs de flore totale sont beaucoup plus élevées que celles trouvés dans des Jben étudié par **Mennane *et al*, (2007)** soit (7.5×10^4 UFC/g). Elles sont aussi élevées par rapport aux valeurs trouvées par **Belyagoubi et Abdelouahid. (2013)** ou la charge est de (3.47×10^7 UFC/g), et par rapport aux résultats mentionnés par **Bouadjaib. (2013)**, où le Jben a une charge de (1.88×10^6 UFC/g).

2.1.2. Levures et moisissures

Les levures et moisissures dénombrées sur milieu Sabourand sont représentées dans la figure suivante :

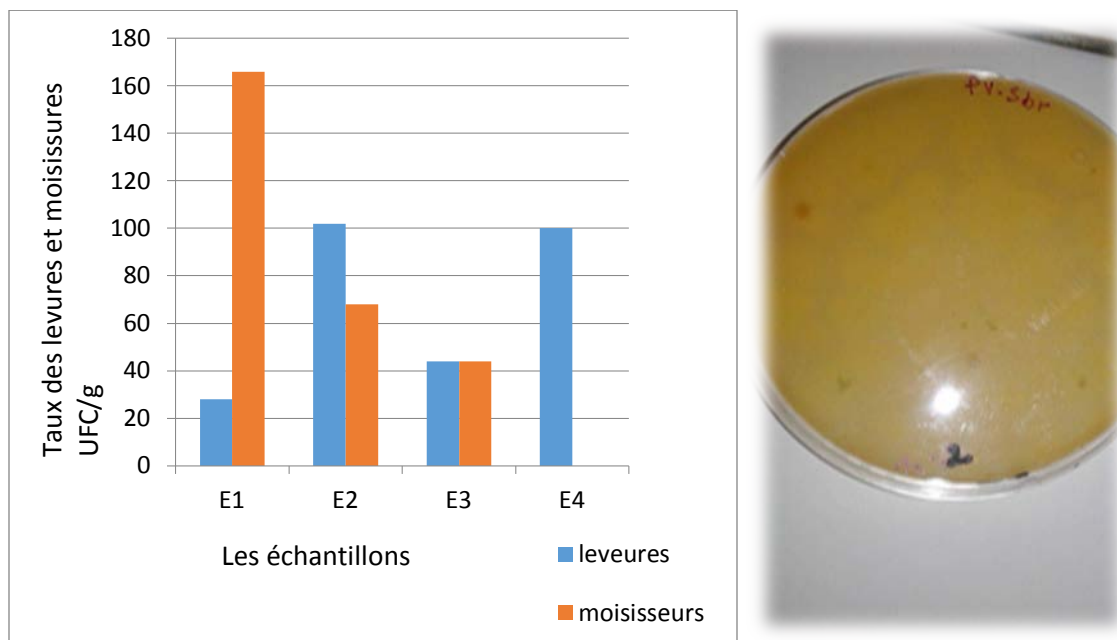


Figure 11 : Taux levures et moisissures dans les quatre échantillons de « Jben ».

Les levures sont présents dans les quatre échantillons de jben, Ils sont plus nombreux dans les échantillons E2 et E4 (102×10^2 UFC/g), (100×10^2 UFC/g). L'échantillon E1 possède le taux le plus faible, Ces résultats sont différents de ceux de (**Rhiat *et al.*, 2011**), pour des Jbens contrôlée ($0,6 \cdot 10^4$ UFC/ml).

Les moisissures sont absentes dans le quatrième échantillon. Alors que le premier échantillon possède la charge la plus élevée (166×10^2 UFC/g) par rapport au deuxième et troisième (68×10^2 UFC/g) et (44×10^2 UFC/g).

2.1.3. Entérobactéries

Les Entérobactéries dénombrés dans le milieu Mac Conkey après 24h à 37°C, sont représentés dans la figure suivante :

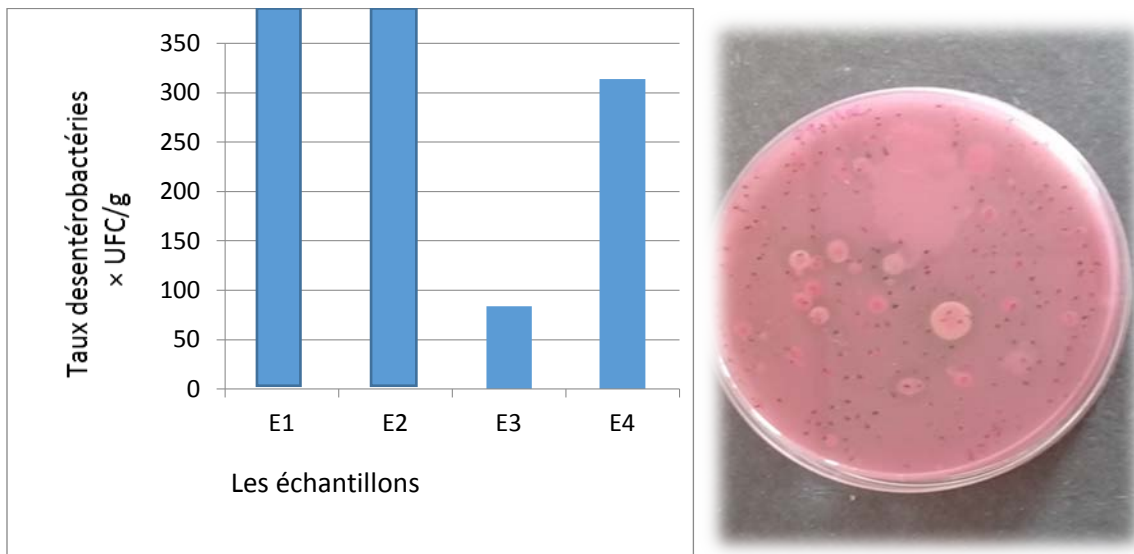


Figure 12 : Taux des Entérobactéries retrouvé dans milieu Mac Conkey.

Les entérobactéries sont très nombreux dans les échantillons 1 et 2 avec un taux identique. Dans le « jben 3 » le taux est faible. Les valeurs sont plus élevées par rapport aux résultats mentionnés par **Kerroum. (2016)**.

2.1.4. Coliformes

Les valeurs trouvées des coliformes totaux et fécaux pour les quatre échantillons, sont mentionnés dans la figure suivante :

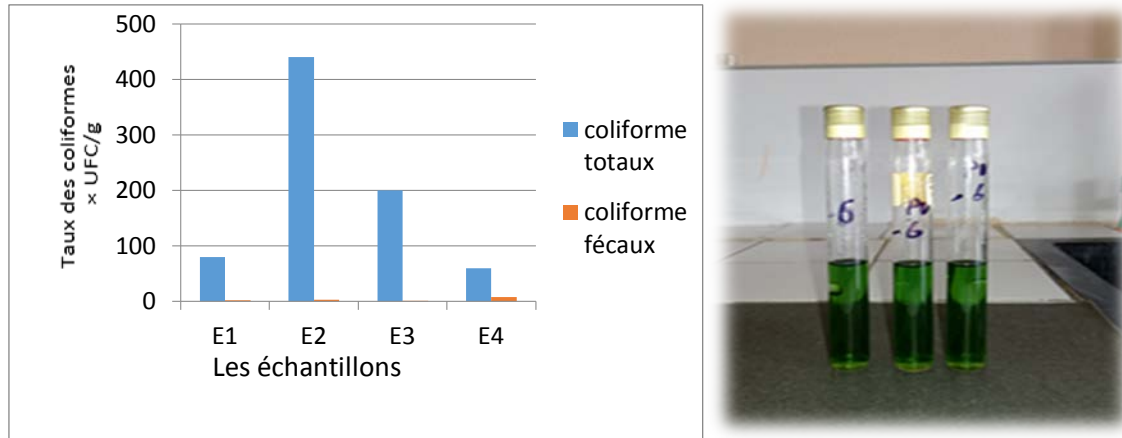


Figure 13 : Taux des coliformes totaux sur milieu BLBVB.

Le dénombrement des coliformes à 37°C sur milieu BLBVL, montre que le Jben possède une charge microbienne de $(195 \times 10^4 \text{ UFC/g})$. Il y a moins de coliformes qui résistent à 44°C ($3.4 \times 10^4 \text{ UFC/g}$).

L'échantillon « 2 » présente une valeur de coliforme totaux beaucoup plus importante que les autres échantillons surtout par rapport à E1 et E2 dont le taux est faible est presque le même. Le taux de coliformes fécaux est très faible pour les trois échantillons. Ces valeurs sont moins élevées par rapport aux « Jben » étudié par **Kerroum. (2016)**.

2.1.5. Streptocoques fécaux

La figure suivante présente le taux des Streptocoques fécaux trouvés après dénombrement sur milieu Rothe et incubation 24h auparavant à 37°C :

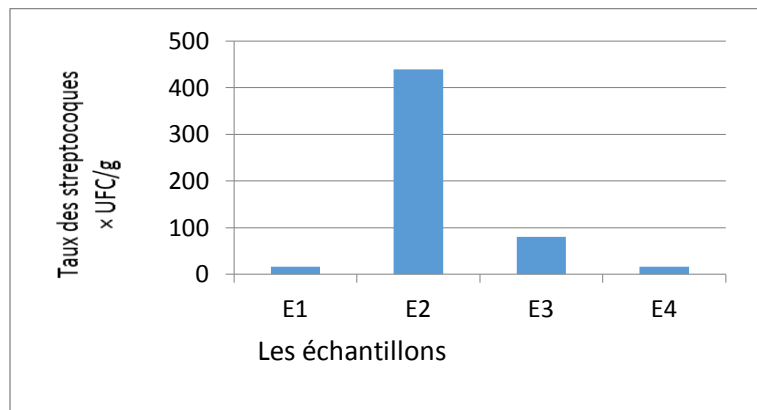


Figure 14 : Taux de Streptocoques fécaux trouvé sur milieu Rothe.

Les Streptocoques fécaux sont présents dans l'échantillon « 2 » avec un taux très élevé (440×10^4 UFC/g). Ils sont presque absents dans l'échantillon 1 et 4 avec presque la même charge (16×10^4 UFC/g). Nos valeurs sont élevées par rapport au résultat trouvé par **kerroum. (2016)**.

2.1.6. Staphylocoques

Les Staphylocoques dénombrés dans le milieu chapman après 24h à 37°C sont représentée dans la figure suivante :

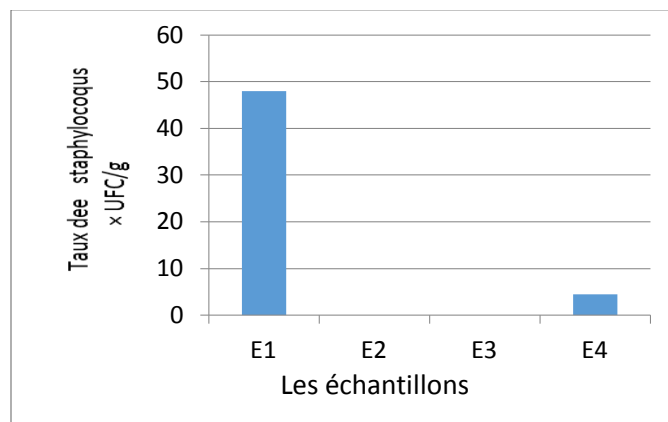


Figure 15 : Taux des Staphylocoques retrouvés dans les quatre échantillons de « Jben ».

Les Staphylocoques sont absents dans les échantillons 2 et 3. La charge est beaucoup plus importante dans le jben 1 par rapport au jben 4. N'empêche que nos valeurs restent faibles par rapport aux Jben étudiés par **kerroum. (2016)**, ou la charge est (170×10^3 UFC/g).

Les échantillons étudié sont altérés par les coliformes, les champignons, les streptocoques, les bactéries sporulées, les staphylocoques et les entérobactéries alors qu'il y absence totale des salmonella et shigella.

2.1.7. Bacillus

Les taux de Bacillus trouvés dans les quatre échantillons sont représentés dans les figures suivantes :

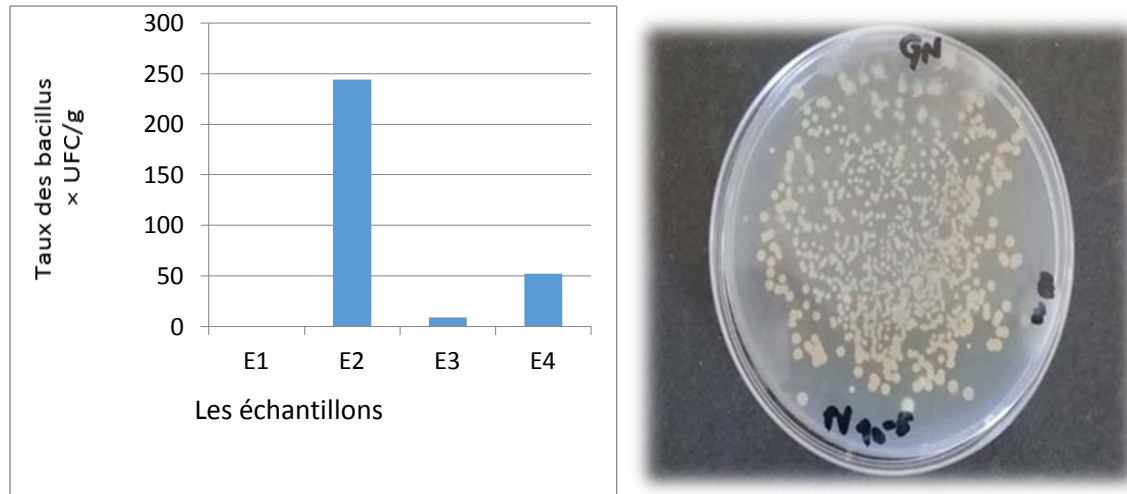


Figure 16 : Taux de Bacillus trouvé sur milieu GN

Le jben « 1 » ne contient pas des Bacillus, l'échantillon 2 possède la charge microbienne la plus élevée (244×10^7 UFC/g) et l'échantillon trois la plus faible (88×10^5 UFC/g). Les travaux de **kerroum. (2016)** ont montré aussi la présence de Bacillus en nombre important.

2.1.8. Clostridium

Les spores de Clostridium sulfito-réducteurs sont absents dans les quatre échantillons, ce qui est conforme aux normes Algériennes fixées dans les arrêtés du Journal Officiel (1998).

2.1.9. Salmonella

Salmonella est absente dans le milieu SS, ce qui confirme leur absence dans le jben

2.2. Dénombrements des bactéries lactiques

Les graphes suivants montrent le taux des bactéries lactiques trouvées dans les quatre échantillons :

2.2.1. Lactobacilles

La présence des Lactobacilles dans nos échantillons de jben est mentionnée dans la figure ci-dessous :

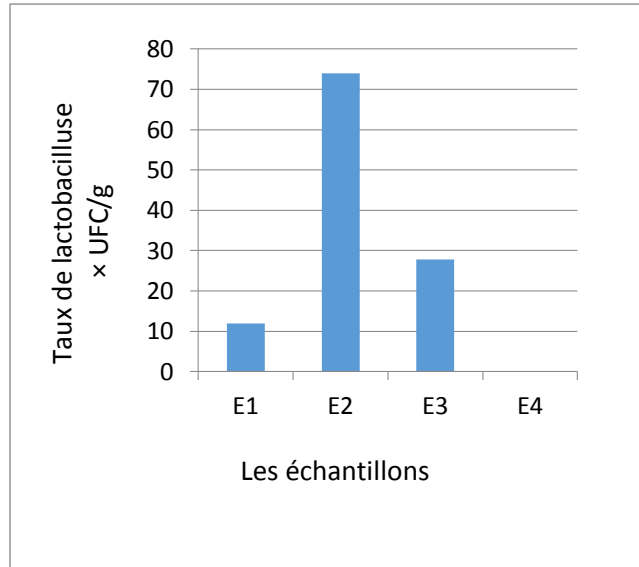


Figure 17: Taux des lactobacilles sur milieu MRS.

À la température d'incubation de 30°C, le Jben possède les charges microbiennes suivantes : (120×10^6 UFC/g) dans l'échantillon « 1 » et (74×10^7 UFC/g) dans le deuxième échantillon et pour le troisième (278×10^6 UFC/g). Les lactobacilles sont présents dans 3 échantillons seulement avec un taux élevé dans l'échantillon 2. L'échantillon 4 ne contient pas de lactobacilles.

Les travaux de **Ouadghiri. (2009)**, ont montrés que les lactobacilles sont présentes dans tous les échantillons analysés avec un dénombrements de 10^8 à 10^9 UFC/g., ces valeurs sont plus élevées par rapport aux résultats reportés par **Mennane *et al.*, (2007)** sur la Klila et le Jben. De même, les études de **Belyagoubi et Abdelouahid. (2013)** sur le Jben ont révélé des valeurs de lactobacillus moins élevées.

2.2.2. lactocoques

La présence des Lactocoques dans nos échantillons de jben est mentionnée dans la figure ci- dessous :

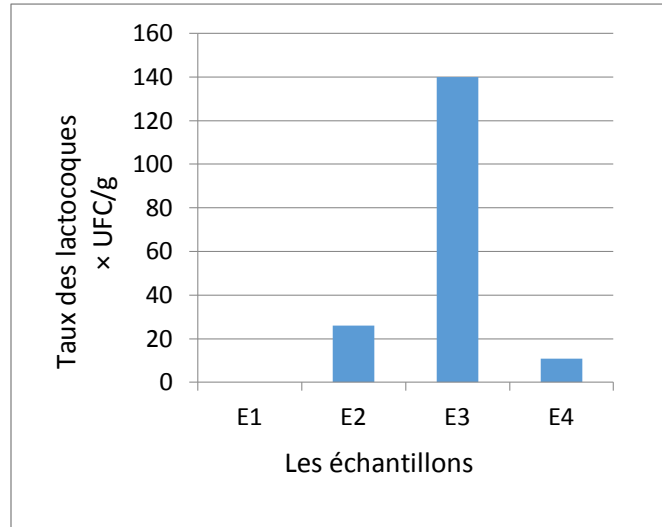


Figure 18 : Taux des lactobacilles sur milieu M17

Les Lactocoques sont absents dans le jben de l'échantillon « 1 », et ils sont très nombreux dans le jben « 3 ». Par rapport aux jben « 2 » et « 4 » avec une valeur de $(140 \times 10^7 \text{ UFC/g})$. Ces valeurs sont plus élevées par rapport aux jben étudié par **Boufelja. (2017)**, dont l'enzyme coagulante est de nature animale (présure). Tandis que, les études de **Belyagoubi et Abdelouahid. (2013)** sur les bactéries lactiques isolées du Jben ont révélé des valeurs moins élevées

2.2.3. leuconostocs

La présence des Leuconostocs dans nos échantillons de jben est mentionnée dans la figure ci- dessous :

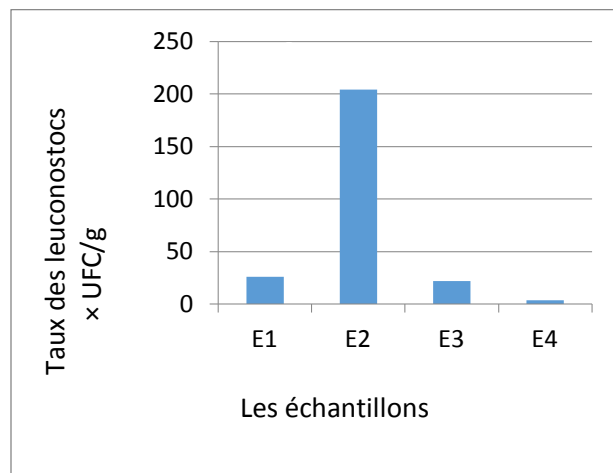


Figure 19 : Taux des leuconostocs sur milieu MRS+V.

Les *Leuconostocs* sont présents dans les quatre échantillons avec un taux important surtout dans E2 alors qu'il est très faible dans E4, E1 et E3 ont des taux identiques.

Les bactéries lactiques sont présentes dans tous les échantillons de « Jben » avec un taux très élevée ceci est en accord avec les travaux de **Ouadghiri. (2009)**.

3. Caractérisation des bactéries lactiques

3.1. Confirmation des caractères morphologiques et physiologiques des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques isolées de leurs milieux spécifiques ont subi des observations macroscopiques et microscopiques avec quelques tests physiologiques et biochimiques pour confirmer le genre.

28 souches ont été isolées Gram positives et catalase négatives.

3.2. Examen macroscopique

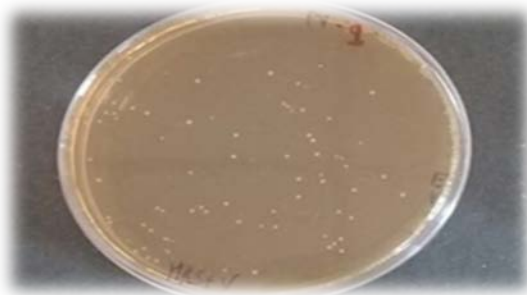


Figure 20 : Bactéries lactiques sur milieu MRS+V.

Les cultures obtenues sur milieu MRS et M17 solide sont observées à l'œil nu puis au microscopique Les observations ont révélé des colonies blanches avec une forme ronde pour presque la totalité des souches sauf trois avec une couleur marron Sur milieu MRS+Voncomycine solide les colonies sont transparentes, rondes très petites. Il s'accroît au fur et à mesure de la purification des souches, ceci traduit le caractère micro-aérophile des bactéries lactiques.

3.3. Caractères microscopique

La caractérisation microscopique est basée sur la coloration de Gram.

Après la coloration de Gram, nous avons passé à l'observation microscopique qui a montré que la plupart des souches étudiées possédant les mêmes caractères :

- Gram positif
- Catalase négative
- En forme des coques ou bacilles ou des petits bacilles disposés en paires ou en diplocoque ou en chainettes.

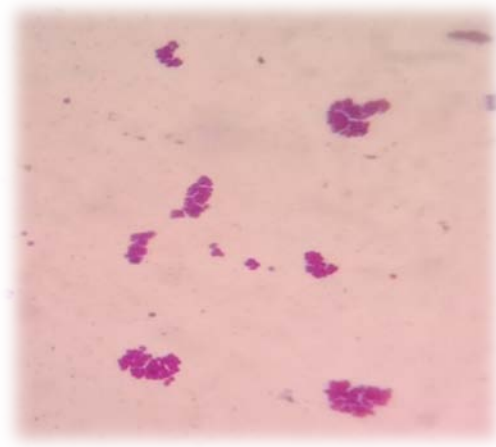


Figure 21 : Observations microscopiques des lactobacilles isolés Grossissement (:10x100).

Résultats et discussion

4. Identification des bactéries lactique

Tableau 05 : Caractérisations des bactéries lactique

Code de souche	Test biochimique		Test physiologique	Test Morphologique		
	Oxydase	Catalase	Type fermentaire	Gram	Observation microscopique	Genre de bactérie
S1	-	-	Homofermentaire	+	Bacille en chaînette	Lactobacillus
S2	-	-	Homofermentaire	+	Bacille en chaînette	Lactobacillus
S3	-	-	Homofermentaire	+	Cocci monocoque	Lactobacillus
S4	-	-	Homofermentaire	+	Cocci monocoque	Lactobacillus
S5	-	-	Homofermentaire	+	Petit bacille chaînette	Lactobacillus
S6	-	-	Homofermentaire	+	Petit bacille chaînette	Lactobacillus
S7	-	-	Homofermentaire	+	Bacille en chaînette	Lactobacillus
S8	-	-	Homofermentaire	+	Petit bacille chaînette	Lactobacillus
S9	-	-	Homofermentaire	+	Bacille en chaînette	Lactobacillus
S10	-	-	Homofermentaire	+	Petit bacille chaînette	Lactobacillus
S11	-	-	Homofermentaire	+	Petit bacille chaînette	Lactobacillus
S12	-	-	Homofermentaire	+	Bacille en chaînette	Lactobacillus
S13	-	-	Homofermentaire	+	Cocci monocoque	Lactocoque
S14	-	-	Homofermentaire	+	Cocci diplocoque	Lactocoque
S15	-	-	Homofermentaire	+	Cocci diplocoque	Lactocoque
S16	-	-	Homofermentaire	+	Cocci diplocoque	Enterocoque
S17	-	-	Homofermentaire	+	Cocci diplocoque	Pediococcus
S18	-	-	Homofermentaire	+	Cocci tétrade	Lactocoque
S19	-	-	Homofermentaire	+	Cocci diplocoque	Lactocoque
S20	-	-	Homofermentaire	+	Cocci diplocoque	Enterocoque
S21	-	-	Homofermentaire	+	Cocci diplocoque	Lactocoque
S22	-	-	Hétéro fermentaire	+	Petit cocci chaînette	Leuconostoc
S23	-	-	Hétéro fermentaire	+	Petit cocci chaînette	Leuconostoc
S24	-	-	Hétéro fermentaire	+	Petit cocci chaînette	Leuconostoc
S25	-	-	Hétéro fermentaire	+	Cocci diplocoque	Leuconostoc
S26	-	-	Hétéro fermentaire	+	Petit cocci chaînette	Leuconostoc
S27	-	-	Hétéro fermentaire	+	Petit cocci chaînette	Leuconostoc
S28	-	-	Hétéro fermentaire	+	Petit cocci chaînette	Leuconostoc

Résultats et discussion

5. Identification phénotypique des bactéries de contamination

Tableau 06 : Caractérisation des bactéries pathogène et d'altération

Code de Souches	Test biochimique		Test morphologique		Souches identifiées par API20E et API Staph
	Oxydase	Catalase	Gram	Formes	
S1	-	+	-	Coccobacilles	<i>E. coli</i>
S2	+	-	-	Petite bacille	<i>Citrobacter brookii</i>
S3	-	+	-	Coccobacilles	<i>Citrobacter brookii</i>
S4	-	-	-	Cocci chainette	<i>E. coli</i>
S5	-	-	-	Bacille	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
S6	+	+	-	Bacilles	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
S7	+	+	-	Bacilles	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
S8	+	+	+	Cocci grappe en raisin	<i>Staphylococcus aureus</i>
S9	+	+	+	Cocci grappe en raisin	<i>Staphylococcus aureus</i>
S10	+	+	-	Cocci grappe en raisin	<i>Staphylococcus aureus</i>
S11	+	+	+	Cocci grappe en raisin	<i>Staphylococcus warnei</i>
S12	+	+	+	Bacille spore	<i>Bacillus cereus</i>
S13	+	+	+	Cocci	<i>Bacillus cereus</i>
S14	+	+	+	Cocci	<i>Bacillus cereus</i>
S15	+	+	-	Bacille ovoïde subterminale non déformante	<i>Bacillus cereus</i>

En plus de la présence de d'*E.coli* et de *Citrobacter brookii* sur milieu Mac Conkey, *Pseudomonas aeruginosa* apparait avec un aspect ovale de couleur marron et une odeur spécifique.

Bacillus cereus aussi est présente dans nos jben, la bactérie est identifié sur gélose nutritive par son aspect, sa taille, sa couleur, elle est reconnu suite à des expériences de routine

Staphylococcus aureus et *S.warnei* sont identifiés par les galeries API STAPH
Parmi les 15 souches isolées nous avons des germes de contamination fécale comme *E.coli*, des germes d'altération comme *Pseudomonas aeruginosa* et des germes pathogènes comme *Staphylococcus aureus* et *Bacillus cereus*

5.1. Tests biochimiques

5.1.1. Test de catalase

Les 28 souches des bactéries lactique étudiées sont toutes catalase négative.

5.1.2. Tests oxydase

Toutes les 28 souches sont oxydases négatifs. (Figure 22 représente le test d'oxydase positive dans quelques souche des bactéries de pathogènes)



Figure 22 : résultats de test oxydase.

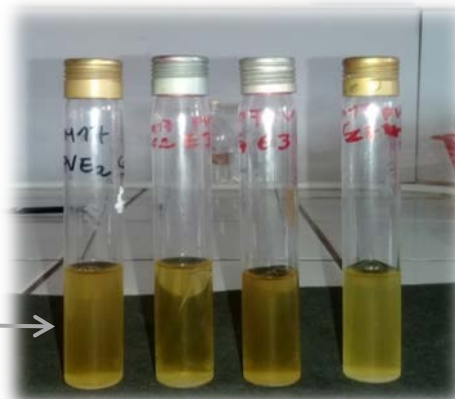
5.2. Tests physiologiques

5.2.1. Test de type fermentaire

21 souches sont homofermentaires (13 tubes de milieu MRS et 8 tubes de M17) et 7 souches sont hétéro fermentaires (milieu MRS+V) c'est-à-dire il y a un dégagement de gaz.



Figure 23 : Résultats de type fermentaire des souches de MRS+V.



Homofermentaire

Figure 24 : Résultats de type homofermentaire des souches M17.



Hétérofermentaire

Figure 25 : Résultats de type hétérofermentaire des souches MRS+V.

6. Résultat de Plaque l'API20 E et L'API Staph

6.1. Caractérisation phénotypique de certaines souches

Les entérobactéries et les Staphylocoques trouvés sont identifiés en utilisant les plaques API 20E et API staph



Figure 26 : Résultats des galeries API 20^E.



Figure 27 : Résultats des galeries API Staph.

La présence des Entérobactéries dans les échantillons 3 et 4 avec un taux important surtout dans le quatrième échantillon et la présence des Staphylocoques dans l'échantillon 1 et 2 nous a amené à chercher le genre et l'espèce de la bactérie présente qui peut être pathogène ou non.

Après 24 h d'incubation à 37°, le virage et le changement ou non de couleurs après ajout des réactifs dans certaines cupules nous marque la présence d'*E.coli* et *Citrobacter brookii* comme entérobactéries présents et *Staphylococcus aureus* dans les plaques APIStaph

On peut dire alors que le jben étudié est dangereux, la contamination provient du lait récolté dans des mauvaises conditions comme le manque d'hygiène dans les fermes ou le mauvais stockage et la mauvaise distribution du lait

La contamination peut provenir aussi des procédés de fabrications comme ils sont traditionnels, les mesures et les règles d'hygiènes ne sont pas appliquées car parfois non connu.



Conclusion

Cette étude nous a révélé que les quatre échantillons de « jben » analysés sont altérés par des bactéries mésophiles et des germes de contamination fécale comme *E. coli* et les Streptocoques fécaux dont le taux est très élevé surtout au niveau de l'échantillon 2. Les spores de Clostridium sont absentes mais Bacillus est présent avec une charge plus importante au niveau de l'échantillon 2.

Le « jben » étudié est un produit qui peut être très dangereux puisque l'identification phénotypique a montré l'existence de l'espèce *Staphylococcus aureus* dans les échantillons E1 et E4 et aussi l'espèce *Pseudomonas aeruginosa*

Les bactéries lactiques sont aussi présentes avec un taux remarquable. Le genre lactobacille n'existe pas dans l'échantillon 4, les lactococcus sont aussi absents dans l'échantillon E1, alors que les leuconostocs existent dans les quatre échantillons, mais le taux reste très faible dans E4. La contamination du j'ben peut être due à plusieurs facteurs comme : le non-respect des règles d'hygiènes, l'utilisation des enzymes coagulantes non purifiées, ect....

Afin de pouvoir améliorer sa qualité, nous recommandons aux fabricants, l'application des mesures d'hygiènes strictes, et l'amélioration des procédés de fabrication pour pouvoir le commercialiser dans la mesure du possible.

Ce travail ouvre des Perspectives futures comme :

- La réalisation des analyses organoleptiques et nutritionnelles des échantillons du «jben ».
- Les caractéristiques moléculaires des souches.



Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

- **Abdelbasset, M., Manel, D., Taha, M., & Djamil, K. (2014).** Enzymatic and functional properties of lactic acid bacteria isolated from Algeria fermented milk products. *Advances in Natural and Applied Sciences*, 8(8), 141-151.
- **Abdessalam A. D. (1984).** Contribution à l'étude du lait des ceintures laitières ériurbaines de la zone cotonnière du Sénégal. Th. Méd. Vét., Dakar, 1985, n°21, 126p.
- **Aissaoui Zitoun O., 2003.** Fabrication et caractéristiques d'un fromage traditionnel algérien bouhezza. Thèse de magister, INATAA, Constantine, Algérie. 138 p.
- **Alais C., 1984.** Science du lait. Principes des techniques laitières. Ed. SEPAIC, 4ème édition, 814p.
- **Aquilanti L., Babini V., Santarelli S., Osimani A., Petruzzelli A., Clementi F., 2011.** Bacterial dynamics in raw cow's milk Caciotta cheese manufactured with aqueous extract of *Cynara cardunculus* dried flowers. *Letters in Applied Microbiology*, 52, 651–659.
- **Auld, M.J., Walsh, B.J. and Thomson, N.A. (1998).** Seasonal and lactational influences on bovine milk composition in New Zealand. *J. Dairy Res.* 65: 401–411.
- **Asano, S., & Yamamoto, G. (1975).** Light scattering by a spheroidal particle. *Applied Optics*, 14(1), 29-49.

B

- **Badis, A., Guetarni, D., Kihal, M., Ouzrout, R. 2005.** Caractérisation phénotypique des Bactéries lactiques isolées à partir de lait de chèvre de deux populations locales "Arabia et Kabyle". *Scien&Tech*, 23 : 30-37.
- **Belyagoubi, L., Abdelouahid, D.E. 2013.** Isolation, identification and antibacterial activity of lactic acid bacteria from traditional Algerian dairy products. *Advances in Food Sciences*. 35 (1) :84- 85.
- **Benkerroum N., Tamime A. Y., (2004).** Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben and smen) to small industrial scale. *Food. Microbiol.* 65 :1- 1

Références bibliographiques

- **Benkerroum, N., & Tamime, A. Y. (2004).** Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben and smen) to small industrial scale. *Food Microbiology*, 21(4), 399-413.
- **Bencharif, A. (2001).** Stratégies des acteurs de la filière lait en Algérie: état des lieux et problématiques. *Options Méditerranéennes Série B Etudes et Recherches*, 32, 25-45.
- **Bouadjaib, S. (2014).** Etude physico-chimique du produit laitier traditionnel du Sud algérien «Jben» Recherche du pouvoir antimicrobien des bactéries lactiques (Doctoral dissertation).

C

- **Carr, F.J., Chill, D., et Maida, N. (2002).** The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey. *Critical Rev. Microbiol*, 28 : (4) 281-370.

D

- **Dubeuf, J. P. (1996).** Les perspectives de développement de la filière lait de chèvre dans le bassin méditerranéen. Une réflexion collective appliquée au cas marocain (Vol. 131). L. Thomas (Ed.). Food & Agriculture Org.
- **Djoughri, K., Madani, S., (2015).** Etude microbiologique d'un produit laitier fermenté traditionnel (J'ben) : isolement et identification des bactéries lactiques.
- **Dillon, J.C. (2008).** Place du lait dans l'alimentation humaine en région chaude. Edition A. P.G (Agro Paris Tech).

E

- **El-Baradei, G., Delacroix-Buchet, A., & Ogier, J. C. (2008).** Bacterial biodiversity of traditional Zabady fermented milk. *International journal of food microbiology*, 121(3), 295-301.
- **Ennahdi El Idrissi, A. (1980).** Contribution à l'étude du fromage de chèvre - étude technologique, étude analytique.

F

- **Foltmann, B.O., (1981)** Milk clotting proteases : structure , fonction , neth. *Milk, Dair J.* vol :35, P 223-231.

Références bibliographiques

- **Foltmann B., 1992.** Chymosin : a short review on foetal and neonatalgastricproteases. Scand. J. Clin. Lab. Invest., 210, 65–79.
- Fr.wikipedia.com

G

- **Garnot, P. et Martin,P.,(1980)** la présure : composition, activité, son rôle en fromagerie, la tech laitiere.N°3.vol :930.p27-30.
- **Guinane, C.M., P.D., Hill, C. and Ross, P., 2005.**A review. microbialsolutions to microbialproblems ; lactococcalbacteriocins for the control of undesirablebiota of food.J.Appl.Microbiol., 98 :1316-1325.
- **Guiraud, J.P. 1998.** Microbiologie des principaux produits alimentaires, Microbiologie alimentaire. Ed ©Dunod, Paris.
- **Gutfeld,M,etRosenfeld,P.P.,(1975).** The solution to israel'srennetstorage, dairy industries. Vol 40.P50-55
- **Gravie.,E.I.,1986.**Taxonomy and identification of bacteria important in cheese fermented dairyproducts. In advances in the microbiology and biochemistry and fermented milk.F. I. Davies.,B. A.

H

- **Hamama, A., & Faye, B. (2005).** Relations entre pratiques d'élevage et qualité globale du lait de vache en étables suburbaines au Maroc. Revue de médecine vétérinaire, 156(3), 155-162.

K

- **Kacem, M. et Karam, N. (2006).**Physicochemical and microbiological study of «Shmen», a traditional butter made from camel milk in the Sahara (Algeria): isolation and identification of lactic acid bacteria and yeast.
- **Kihel, M., 1996.** Etude de la productiondu dioxyde de carbone par leuconostocmesenteroides élément d'application en technologie fromagère type fromage bleu.thèse de docteur d'état,universaité d'Oran Es-senia.

Références bibliographiques

- **Kovacs, L.G., ballati, P.A., Kroshman, H.B. and Pueppke, S.G. (1995).** Transcriptional organization and expression of nol XWBTUV. A locus that regulate cultivar-specific nodulation soybean by *Rhizobium fredii* USDA257. *Mol. Microbiol.* 17: 923-933.

L

- **Lebres A.D et Hamza A.,2002.** Cours national d'hygiène et de microbiologie des aliments (Microbiologie des laits et produits laitiers), Institut Pasteur d'Algérie. Pp : 704-706.
- **Lemouchi. 2008 .** Le fromage traditionnel Bouhezza : enquête dans la wilaya de Tébessa et suivie de l'évolution des caractéristiques physico-chimique de deux fabrication .mémoire d'ingénieur, INATAA, Constantine, 65p.
- **Lhsaoui, S. (2009).** Etude de procédé de fabrication d'un fromage traditionnel (klila). Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention de diplôme d'Ingénieur Université El Hadj Lakhdar Batna, Département d'Agronomie.
- **Lapointe-Vignola, C. (2002).** Science et technologie du lait: transformation du lait. Presses inter Polytechnique.
- **Larpent, J.P, (1997).** Mémento technique de microbiologie .3eme Ed. Technique et Documentation Lavoisier. Paris. 910 pages.

M

- **Mallaye, A. M. N.** Essai de fabrication d'un fromage frais traditionnel sénégalais, à partir du lait de vache, coagulé par la papaïne naturelle.
- **Mathara, J. M., Schillinger, U., Kutima, P. M., Mbugua, S. K., &Holzapfel, W. H. (2004).** Isolation, identification and characterisation of the dominant microorganisms of kulenaoto: the Maasaitraditional fermented milk in Kenya. *International journal of foodmicrobiology*, 94(3), 269-278.
- **Mechai A. Et Kirane D., (2008).** Antimicrobial activity of autochthonous lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional fermented milk —Raïbl. *African Journal of Biotechnology*, 7 (16): 2908-2914.

Références bibliographiques

- **Menard, J.L., Roussel, P., Masselin-Silvin, S., Puthod, R., Hetreau, T., Foret, A., Houssin, B., Aracil, C. and Le Guenic, M., (2004).** Contamination bactérienne d'une litière de stabulation libre paillée: effet de la fréquence de paillage et proposition d'une méthode pour son évaluation. In: Rencontres sur les Recherches autour des Ruminants. Institut de l'Elevage – INRA, Paris, 11 : 333–336.
- **Ménard, C. (2004).** The economics of hybridorganizations. Journal of Institutional and Theoretical Economics JITE, 160(3), 345-376.
- **Mennane, Z., Khedid, K., Zinedine, A., Lagzouli, M., Ouhssine, M. and Elyachioui, M. (2007)** .MicrobialCharacteristics of Klila and JbenTraditionnalMoroccanCheesefromRawCow's Milk. World Journal of Dairy& Food Sciences , 2 (1): 23-27.
- **Mietton, B., Desmazeaud, M., deRoissart, H., & Weber, F. (1991).** Transformation du lait en fromage; in “Les Bactéries Lactiques II”. Edition Technique et Documentation. Lavoisier, Paris.

N

- **Nouani, A., Daga, S. M., Alzouma, A. M., ... &Penninckx, M. J. (2010).** Characterization and cheese-makingproperties of rennet-like enzyme produced by a local Algerian isolate of *Aspergillusniger*. Food biotechnology, 24(3), 258-269.
- **Nunez M., Fernandez Del Pozo B., Asuuncia M.A., Rodriguez M., Gaya P., Medina M.,1991.**Effect of vegetable and animal rennet on chemical, microbiological, theological and sensorycharacteristics of La serenacheese. Journal DairyResearch, Vol.58, pp:511-519.

O

- **Ouadghiri, M. 2009.** Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés « lben » et « jben » d'origine marocaine. thèse de doctorat. université Mohammed V – agdal faculté des sciences Rabat. 26-28.
- **Ouadghiri M., (2009).** Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés «Lben» et «Jben» d'origine marocaine, thèse de doctorat en

Références bibliographiques

Microbiologie et Biologie Moléculaire. Université Mohammed V–agdal Faculté des sciences Rabat, Maroc. 132 p.

- **Owusu-Kwarteng J, Akabanda F, Nielsen DS, Tano-Debrah K, Glover RL, Jespersen L.(2012).**Identification of lactic acid bacteria isolated during traditional fura processing in Ghana. *Food Microbiol.* 32:72–8.

P

- **Perols, C., Piffaut, B., Scher, J., Ramet, J. P., &Poncelet, D. (1997).** The potential of enzyme entrapment in konjac cold-melting gel beads. *Enzyme and MicrobialTechnology*, 20(1), 57-60.
- **Poznanski, E. L. I. S. A., Cavazza, A. G. O. S. T. I. N. O., Cappa, F., &Cocconcelli, P. S. (2004).**Indigenousrawmilkmicrobiota influences the bacterialdevelopment in traditional cheese from an alpine naturalpark. *International journal of foodmicrobiology*, 92(2), 141-151.
- **Prescott, L.M., Harley, J.P. and Donald, A. (2003).** *Microbiologie*, De boeck université, 2eme édition française. 128 : 28-29.

R

- **Rhiat,M.,Hicham, L. Abdelhak, D., Mahjoub, A.,Youness, C.,Abdelhak, D.,Zakaria, M., Mohammed, O. (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.
- **Richter, J. (1998).**Microbialgrowth in soil and nitrogen turnover: model calibration withlaboratory data. *SoilBiology and Biochemistry*, 30(13), 1757-1764.
- **Roseiro L.B., Barbosa M., M Ames J., Wilbey R.A., 2003.**Cheesemakingwithvegetable coagulants the use of *Cynara L.* for the

Références bibliographiques

production of ovine milkcheeses. *International Journal of DairyTechnology*, 56, 76-85.

- **Ross, R. P., Morgan, S., and Hill, C. (2002)** Preservation and fermentation: past, present and future. *Int J Food Microbiol.*79: 3-16.
- **Rosset, R. 2001.** Etude du cas particulier de *Listeria monocytogenes*, croissance microbienne et froid.

S

- **Samelis, J., Maurogenakis, F., Metaxopoulos, J., (1994).** Characterization of Lactic Acid Bacteria isolated from naturally fermented greek dry salami. *INT.J.FoodMicrobiol.* 23 : 179-196.
- **Seigumfeldt, H.,Rechinger, K.B., and Jacobsen, M.,2000.** Dynamic changes of intracellular pH in individuallacticacidbacteriumcells in response to a rapid drop in extracellular pH *Appl Environ.Microbiol.*,66 :2330-2335.
- **Sousa M.J., Malcata F.X., 2002.**Advances in the role of a plant coagulant (*Cynaracardunculus*) in vitro and duringripening of cheesesfromseveralmilkspecies. *Le Lait*, 82.
- **Sousa, M. J., &Malcata, F. X. (2001).**Storage and lyophilizationeffects of extracts of *Cynaracardunculus* on the degradation of ovine and caprine caseins. *Food chemistry*, 72(1), 79-88.
- **Stiles,M.E. and holzapfel,W.,1997.**Lactic acidbacteria of foods and theircurrenttaxonomy. *Int. J.FoodMicrobiol*, 36(1), 1-29.
- **Savadogo, A., Ouattara, C. A. T., Savadogo, P. W., Ouattara, A. S., Barro, N., &Traore, A. S. (2004).**Microorganismsinvolved in Fulanitradectional fermented milk in Burkina Faso. *Pak. J. Nutr*, 3(2), 134-139.

Références bibliographiques

T

- **Tamime, A. Y., & Marshall, V. M. E. (1997).** Microbiology and technology of fermented milks. In *Microbiology and biochemistry of cheese and fermented milk* (pp. 57-152). Springer US.
- **Tavaria, F. K., Sousa, M. J., & Malcata, F. X. (2001).** Storage and lyophilization effects of extracts of *Cynaracardunculus* on the degradation of ovine and caprine caseins. *Food chemistry*, 72(1), 79-88.
- **Terrien, M., & Fournier, J. (1998).** *Chimie du petit déjeuner*, Marie Terrien, Josette Fournier ; Culture et techniques, IUFM (1998)-ISBN 2-9510168-5-9.
- **Tolle, A. (1980).** The microflora of the udder. *Bull. Int. Dairy Fed*, 120: 4–10.
- **Touati K., 1990:** Contribution à l'étude microbiologique et physico-chimique d'un fromage artisanal algérien "la klila". Mémoire d'ingénieur, INATAA, Constantine, Algérie, 83 p.
- **Tomro, H. (2010)** .Diversité des flores microbiennes du lait crus de chèvre et facteurs de variabilité .Thèse en vue de l'obtention du doctorat de l'université de Toulouse, 238 pages.

U

- **Université Libre de Bruxelles- CUDEC- dernière modification :04-2005.** Vinahieu@upb.ac.be 32-2-650.29.71

V

- **Vierling, (2003).** *Aliments et boissons. Filières et produits.* Dion éditeurs. Centre régionale de documentation pédagogique d'aquitaine.

W

- www.berthomeau.com
- www.gettyimage.com

Références bibliographiques

- www.microbiologiemedicale.fr
- www.mobitec.com
- www.univers-biere.net



Annexes

Annexe 01 :

Tableau07 : des résultats des analyses microbiologiques

	E1	E2	E3	E4
Coliformes totaux	80 x10 ⁴	440 x10 ⁴	200 x10 ⁴	60 x10 ⁴
Coliformes fécaux	1.6 x10 ⁴	2.8 x10 ⁴	1.2 x10 ⁴	8 x10 ⁴
Streptocoque fécaux	16 x10 ⁴	440 x10 ⁴	80 x10 ⁴	16 x10 ⁴
Leveurs	28 x10 ²	102 x10 ²	44 x10 ²	100 x10 ²
Moisissures	166 x10 ²	68 x10 ²	44 x10 ²	0
Staphylocoque	48 x10 ²	0	0	160 x10 ⁴
Flore total	50 x10 ⁷	260 x10 ⁷	56 x10 ⁷	70 x10 ⁷
Bacillus	0	244 x10 ⁷	88 x10 ⁵	52 x10 ⁷
Clostridium	0	0	0	0
Entérobactérie	Ind	Ind	84 x10 ⁴	318 x10 ⁴
Lactobacille	120 x10 ⁶	74 x10 ⁷	278 x10 ⁶	0
Leuconostoc	206 x10 ⁵	204 x10 ⁶	220 x10 ⁴	364 x10 ²
Lactocoque	0	103 x10 ⁵	140 x10 ⁷	108 x10 ⁵

Annexe 02 :

Composition des diluants (g/l) (Institut Pasteur, 2003)

1- Eau physiologique peptonée

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Peptone	0,5g
Chlorure de sodium	8,5g
Eau distillée	1000ml
pH = 7,0. Autoclavage 120°C pendant 20 minutes	

2- Eau physiologique

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Chlorure	9
Dissoudre 9 g dans un litre d'eau distillée; autoclave 15 min à 121 °C; pH= 7	

Annexe 03:

Formules des milieux de culture (Institut Pasteur, 2003)

▪ **PCA**

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Peptone de caséine	5,00
Extrait de levure	2,50
Glucose	1,00
Agar	15,00
Autoclavage 120°C pendant 20 minutes, pH = 7 ± 0,2 à 25°C	

▪ **CHAPMAN**

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Extrait de viande	3
Extrait de levure	3
Tryptone	5
Peptone bactériologique	10
Chlorure de sodium	70
Mannitol	10
Rouge de phénol	0,05

Agar	18
Dissoudre 119 g dans un litre d'eau distillée; autoclavage : 121°C pendant 15min. pH=7.1±0.1 à 37 °C	

▪ **VIANDE FOIE**

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Peptone viande-foie	30,00
Sulfite de sodium	2,50
Glucose	2,00
Citrate ferrique ammoniacal	0,50
Amidon soluble	2,00
Agar	11,00
autoclavage : 121°C pendant 15min. pH=7.6±0.2 à 25°C	

▪ **M-17**

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Extrait de levure	2, 5g
Extrait de viande	5g
Peptone de caséine	2, 5g
Peptone de viande	2, 5g
Peptone de soja	5g
Acide ascorbique	0, 5g
B -glycérophosphate de sodium	19g
Agar	12, 75g
Sulfate de magnésium	0.25g
Eau distillée	1000 ml
Autoclavage : 121°C pendant 15min. pH=7.1±0.2 à 37 °C	

▪ **MRS (de Man Rogosa et Sharpe, 1960)**

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
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	1000 ml

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

▪ **LITSKY**

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Trytone	20
Glucose	1,5
Extrait de viande	4
Chlorure de soduim	5
Phosphate dipotassique	2,7
Phosphate monopotassique	2,7
Azide de sodium	0,2

Dissoudre 36,1g dans un litre d'eau distillée; autoclavage : 121°C pendant 15min. pH=6,9à 37 °C

▪ **ROTHER**

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Peptone de caséine	20
Extrait de viande	1,5
Glucose	4
Chlorure de sodium	5
Phosphate dipotassique	2,7
Phosphate monopotassique	2,7
Azide de sodium	0,2

Dissoudre 36,1g dans un litre d'eau distillée; autoclavage : 121°C pendant 15min.
pH=6,9à 37 °C

▪ **LITSKY**

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Trytone	20
Glucose	1,5
Extrait de viande	4
Chlorure de soduim	5
Phosphate dipotassique	2,7
Phosphate monopotassique	2,7
Azide de sodium	0,2

Dissoudre 36,1g dans un litre d'eau distillée; autoclavage : 121°C pendant 15min.
pH=6,9à 37 °C

▪ **GELOSE NUTRITIVE**

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Peptone	10
Extrait de viande	3

Extrait de levure	3
Chlorure de sodium	5
Agar	18
Dissoudre 39g dans litre d'eau distillée ; autoclave 15 mn à 121°C ; pH = 7,3	

▪ **TSI**

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Tryptone	14g
Extrait autolytique de levure	3g
Extrait de viande	3g
Glucose	1g
Lactose	10g
Saccharose	10g
Chlorure de sodium	5g
Thiosulfate de sodium	0,3g
Citrate ferrique ammoniacal	0,3g
Rouge de phénol	24mg
Agar agar bactériologique	13,5g
autoclavage : 121°C pendant 15min. pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,4 ± 0,2.	

▪ **HEKTOEN**

Composition et Préparation :

Constituants	Quantité en g/l
Protéose peptone	12g
Extrait de levure	3g
Chlorure de sodium	5g
Thiosulfate de sodium	5g
Sels biliaries	9g
Citrate de fer III et d'ammonium	1,5g

Salicine	2g
Lactose	12g
Saccharose	12g
Fuschine acide	0,1g
Bleu de bromothymol	0,065g
Agar	14g
Eau distillée	1000mL
autoclavage : 121°C pendant 15min	

Annex 04

La composition des colorants de Gram

1. Violet de gentiane au cristal :

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

2. Lugol :

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

Flacon brun

3. Fuchsine de Ziehl :

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

Annexe 05

Coloration de Gram

La coloration de Gram a été effectuée selon le protocole décrit par Prescott et al., 2003.

1. Déposer une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame bien propre
2. Prélever un échantillon de colonie et mélanger avec la goutte d'eau, strier et sécher par passage rapide sur la flamme d'un bec benzène
3. Couvrir le frottis par du cristal violet pendant 60 secondes
4. Laver l'excès du colorant avec de l'eau distillée
5. Couvrir de lugol pendant 30 secondes
6. Laver à l'eau distillée pendant 5 secondes
7. Rincer immédiatement le frottis avec le mélange alcool - acétone en inclinant la lame et par goutte à goutte jusqu'à disparition complète de la coloration violette
8. Laver à l'eau distillée pendant 5 secondes
9. Couvrir avec de la fuschine pendant 15 secondes
10. Laver à l'eau distillée pendant 10 secondes
11. Déposer une goutte d'huile à immersion sur le frottis et observer au microscope à un fort grossissement.

Les cellules Gram+ absorbent la couleur du cristal violet et demeurent bleues violettes en apparence, contrairement aux cellules Gram- qui apparaissent distinctement rosâtres.

Annexe 06

Table de Mac Credy

Table pour le calcul du nombre le plus probable (N.P.P.) :

Référence :
J.-C. De Man - European J. Applied Microbiol 4.307-316 (1977).

Nombre de tubes positifs au niveau des trois dilutions successives retenues			Coefficient NPP	Catégorie (*)
1er	2e	3e		
0	0	0	< 0,3	0
0	0	1	0,3	2
0	1	0		0
0	2	0	0,4	1
1	0	0	0,7	2
1	1	0	0,7	1
1	1	1	1,1	0
1	2	0		2
1	2	1		0
2	3	0	0,9	0
2	0	0	1,4	1
2	0	1	1,5	2
2	1	1	2,0	1
2	2	0	2,1	0
2	2	1		0
2	2	2	2	1
2	3	0		1
3	0	0	4	1
3	0	1	4	1
3	0	2	7	0
3	1	0	9	1
3	1	1	15	1
3	2	0	21	2
3	2	1	20	0
3	3	0	50	1
3	3	1	110	1
3	3	2	> 110	1
3	3	3		1

(*) Catégorie 0 : combinaisons de tubes inacceptables, ayant dans des conditions normales, la moins de chance d'être obtenues. Les combinaisons non mentionnées dans la table ci-contre appartiennent également à cette catégorie. Le fait que l'on obtienne une telle combinaison est probablement attribuable soit à une erreur, soit à une imperfection dans la technique, ou bien encore à la présence d'une substance bactériostatique dans le produit.

Catégorie 1 : combinaisons de tubes les plus probables. Chacune d'entre elles devrait être obtenue dans 95 % des cas.

Catégorie 2 : combinaisons de tubes moins probables que celles de la catégorie 1. Chacune d'entre elles devrait être obtenue dans seulement 4 % des cas (c'est-à-dire que, dans 99 % des cas, on obtiendra des combinaisons de la catégorie 1 ou 2).

Annexe 07

Les résultats des plaques API

CE 07222 REF.: PV C2 E2 2,0,1,7 / 0,5 / 2,4

Origine / Source / Herkunft /
Origen / Origen / Προέλευση /
Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie :

BIOMÉRIEUX

-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-						
1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	4					
0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE	LSTR
6			3			1			2			0			5					5

Autres tests / Other tests / Andere Tests /
Otras pruebas / Altri test / Outros testes /
Άλλες εξετάσεις / Andra tester /
Andre tests / Inne testy :

Ident. / Ταυτοποίηση :
Staphylococcus aureus

CE 07222 B REF.: PV C2 E1 2,0,1,7 / 0,5 / 2,4

Origine / Source / Herkunft /
Origen / Origen / Προέλευση /
Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie :

BIOMÉRIEUX

-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	?	+	-	-	+	-	+	+	+	-
1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE	LSTR
6			3			3			0			1			1					2

Autres tests / Other tests / Andere Tests /
Otras pruebas / Altri test / Outros testes /
Άλλες εξετάσεις / Andra tester /
Andre tests / Inne testy :

Ident. / Ταυτοποίηση :
Staphylococcus aureus

CE 07222 B REF.: PV C1 E2 2,0,1,7 / 0,5 / 2,4

Origine / Source / Herkunft /
Origen / Origen / Προέλευση /
Ursprung / Oprindelse / Pochodzenie :

BIOMÉRIEUX

-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	?	+	-	-	+	-	-	-	+	+
1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE	LSTR
6			3			3			0			1			1					2

Autres tests / Other tests / Andere Tests /
Otras pruebas / Altri test / Outros testes /
Άλλες εξετάσεις / Andra tester /
Andre tests / Inne testy :

Ident. / Ταυτοποίηση :
Staphylococcus warnei

TABELLA DE LECTURA / READING TABLE / ARI ESETABELLE / TABLA DE LECTURA
TABELLA DI LETTURA / QUALIFICAZIONE DE LETTURA / BINAKAT ANA' NOD-DE' /
ΑΙΧΛΑ ΣΗΜΕΙΩΤΑΒΕΛΙΣ / TABLE DES INDICATEURS

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ CATEGORIA	ΑΡΙΘΜΟΣ NOMERO	ΕΠΙΠΕΔΟ NIVELU	ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ DESCRIZIONE	ΑΡΙΘΜΟΣ NOMERO	ΕΠΙΠΕΔΟ NIVELU
ΕΠΙΠΕΔΟ NIVELU	0-000	0-000	ΚΑΤΑΡΤΙΣΗ FORMAZIONE	0-000	0-000
ΕΠΙΠΕΔΟ NIVELU	1-000	1-000	ΚΑΤΑΡΤΙΣΗ FORMAZIONE	1-000	1-000
ΕΠΙΠΕΔΟ NIVELU	2-000	2-000	ΚΑΤΑΡΤΙΣΗ FORMAZIONE	2-000	2-000
ΕΠΙΠΕΔΟ NIVELU	3-000	3-000	ΚΑΤΑΡΤΙΣΗ FORMAZIONE	3-000	3-000
ΕΠΙΠΕΔΟ NIVELU	4-000	4-000	ΚΑΤΑΡΤΙΣΗ FORMAZIONE	4-000	4-000
ΕΠΙΠΕΔΟ NIVELU	5-000	5-000	ΚΑΤΑΡΤΙΣΗ FORMAZIONE	5-000	5-000
ΕΠΙΠΕΔΟ NIVELU	6-000	6-000	ΚΑΤΑΡΤΙΣΗ FORMAZIONE	6-000	6-000
ΕΠΙΠΕΔΟ NIVELU	7-000	7-000	ΚΑΤΑΡΤΙΣΗ FORMAZIONE	7-000	7-000
ΕΠΙΠΕΔΟ NIVELU	8-000	8-000	ΚΑΤΑΡΤΙΣΗ FORMAZIONE	8-000	8-000
ΕΠΙΠΕΔΟ NIVELU	9-000	9-000	ΚΑΤΑΡΤΙΣΗ FORMAZIONE	9-000	9-000

Α. ΠΡΟΤΥΠΟΙ

ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ CATEGORIA	ΑΡΙΘΜΟΣ NOMERO	ΕΠΙΠΕΔΟ NIVELU	ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ DESCRIZIONE	ΑΡΙΘΜΟΣ NOMERO	ΕΠΙΠΕΔΟ NIVELU
ΕΠΙΠΕΔΟ NIVELU	0-000	0-000	ΚΑΤΑΡΤΙΣΗ FORMAZIONE	0-000	0-000
ΕΠΙΠΕΔΟ NIVELU	1-000	1-000	ΚΑΤΑΡΤΙΣΗ FORMAZIONE	1-000	1-000
ΕΠΙΠΕΔΟ NIVELU	2-000	2-000	ΚΑΤΑΡΤΙΣΗ FORMAZIONE	2-000	2-000
ΕΠΙΠΕΔΟ NIVELU	3-000	3-000	ΚΑΤΑΡΤΙΣΗ FORMAZIONE	3-000	3-000
ΕΠΙΠΕΔΟ NIVELU	4-000	4-000	ΚΑΤΑΡΤΙΣΗ FORMAZIONE	4-000	4-000
ΕΠΙΠΕΔΟ NIVELU	5-000	5-000	ΚΑΤΑΡΤΙΣΗ FORMAZIONE	5-000	5-000
ΕΠΙΠΕΔΟ NIVELU	6-000	6-000	ΚΑΤΑΡΤΙΣΗ FORMAZIONE	6-000	6-000
ΕΠΙΠΕΔΟ NIVELU	7-000	7-000	ΚΑΤΑΡΤΙΣΗ FORMAZIONE	7-000	7-000
ΕΠΙΠΕΔΟ NIVELU	8-000	8-000	ΚΑΤΑΡΤΙΣΗ FORMAZIONE	8-000	8-000
ΕΠΙΠΕΔΟ NIVELU	9-000	9-000	ΚΑΤΑΡΤΙΣΗ FORMAZIONE	9-000	9-000

Résumé

Le Jben, est un fromage traditionnel de type pâte fraîche, fabriqué dans plusieurs endroits de l'Algérie, par différentes méthodes, selon qu'ils utilisent « Hakka » un type de présure traditionnelle ou des enzymes de types végétales permettant la coagulation du lait qui peut être, de vache, de brebis ou de chèvre. Il est parfois même commercialisé, c'est ce qui nous amené à étudier ce type de produit.

Quatre échantillons de « J'ben » fabriqué à partir du lait cru de vache en utilisant une enzyme d'origine végétale (fleur de cardon) ont été étudiés. Ces échantillons subissent des analyses physico-chimiques et microbiologiques. Certains germes de contamination trouvés sont caractérisés phénotypiquement par les galeries API 20^E et API STAPH. La flore lactique aussi est dénombrée sur milieu M17 et MRS puis identifiée par des méthodes classiques en se contenant du genre seulement.

Les analyses physico-chimiques montrent des résultats dans les normes. Les analyses microbiologiques indiquent la présence de 28 souches des bactéries lactiques identifiées aux genres : Lactococcus (6 souches), Leuconostoc (7 souches), Lactobacillus (12 souches), Enterocoques (2 souches) et Pediococcus(1). Les bactéries de contamination fécales sont présentes comme les coliformes totaux et streptocoque fécaux, bactéries d'altération existent aussi dans nos échantillons comme Bacillus, et les levures et moisissures. L'identification phénotypique des bactéries pathogènes a montrés la présence de 15 espèces : *Staphylococcus warnei*, *Staphylococcus aureus*, *E.coli*, *Bacillus cereus* et *Pseudomonas aeruginosa*. *Citrobacter brookii*

La présence des bactéries indésirables qui peuvent être d'altération ou pathogènes est du à la contamination du lait à la ferme (par les mamelles, machine à traire, environnement) ou alors le non-respect des règles d'hygiène pendant la fabrication du jben.

Mots clé: Jben, fromage traditionnel, Analyses physico-chimiques, microbiologique, bactéries lactiques, identification phénotypique de bactérie pathogène.

Abstract

Jben is a traditional cheese of fresh paste type, made in several places in Algeria, using different methods, depending on whether they use "Hakka" a traditional type of rennet or enzymes of vegetable types allowing the coagulation of milk which May be of cow, sheep or goat. It is sometimes even marketed, which is what leads us to study this type of product.

Four samples of "J'ben" made from raw cow's milk are taken from the Fellaoucen region. . These samples undergo physico-chemical and microbiological analyzes. Some of the contamination gases found are phenotypically characterized by the API 20E and API STAPH galleries. The lactic drill is also counted on M17 and MRS medium and then identified by conventional methods. Physico-chemical analyzes show results in the standards. Microbiological analyzes indicate the presence of 28 strains of lactic bacteria identified in the genera: Lactococcus (5 strains), Leuconostoc (7 strains), Lactobacillus (12 strains), Streptococcus (3 strains) and Pediococcus (1). Faecal contaminations are present as E coli and faecal Streptococci and alteration bacteria also like Bacillus, Pseudomonas aeruginosa and yeasts and molds. Among the pathogenic bacteria there is the presence of Staphylococcus warnei, and Staphylococcus aureus this confirms the non-respect of the hygiene rules of the product during its manufacture

Words keys: Jben, traditional cheese, Physico-chemical analysis, microbiological, lactic bacteria, phenotypic identification of pathogenic bacteria.

ملخص

الجبن، هو الجبن التقليدي و هونوع من القشدة الطازجة، ويصنع في عدة مناطق من الجزائر، من خلال أساليب مختلفة، كما تستخدم "الحكة" كنوع من المخثر التقليدي أو أنواع من الانزيمات النباتية لتخثر الحليب الذي يمكن أن يكون من البقر، الغنم أو الماعز. يباع في بعض الأحيان، وهذا ما جلبنا لدراسة هذا النوع من المنتجات.

درست أربع عينات من " الجبن" مصنوعة من حليب البقر الخام باستخدام انزيم أصل نباتي (زهرة خرشوف الشوكي) تخضع هذه العينات لبعض التحاليل الفيزيوكيميائية و الميكروبيولوجيا. بعض الجراثيم الملوثة الموجودة تتصف ظاهريا بالصفائح API 20 E و API STAPH، النبتة اللبنية هي ايضا تعد في الاوساط التالية M17 و MRS ثم حددت بطرق كلاسيكية.

تظهر التحاليل الفيزيوكيميائية النتائج في المعايير العادية. التحاليل الميكروبيولوجية تشير الى وجود 28 سلالة من البكتيريا اللبنية التي تم تحديدها لأجناس : Lactococcus (6سلالات)، leuconstocs (7 سلالات)، lactobacillus (12 سلالات)، Enterocoques (2 سلالات) و pediococcus (1)

البكتيريا التلوث برازي هي موجودة ك les coliformes totaux و les streptocoque fécaux. بكتيريا التغيير هي ايضا متواجدة في عيناتنا مثل : Bacillus ;levurs et moisisseurs

تحديد المظهري للبكتيريا المسببة للأمراض حددت 15 نوع : *Staphylococcus warnei*, *Staphylococcus aureus*, *E.coli*, *Bacillus cereus* et *Pseudomonas aeruginosa*. *Citrobacter brookii* وجود البكتيريا غير المرغوب فيها التي قد تكون الممرضة أو المتلفة يرجع ذلك إلى تلوث الحليب في المزرعة (من الثدي، آلة الحلب، والبيئة) ثم فشل النظافة أثناء تصنيع الجبن .

كلمات المفتاحية : الجبن والجبن التقليدي، التحاليل الفيزيائية والكيميائية و الميكروبيولوجية، بكتيريا اللبنية، التحديد المظهري للبكتيريا الممرضة

