



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE ABOU BEKER BELKAID TLEMCCEN

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES 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

BOUFELDJA BESMA

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Option : Microbiologie Appliquée

**Etude physico-chimique et microbiologique d'un fromage
frais traditionnel « jben » fabriqué par « hakka »**

Soutenu le 03/07/2017

Devant le jury

Présidente	BOUBLENZA LAMIA	MCA	U. de Tlemcen
Examinatrice	BELLIFA ep BENAMAR SAMIA	MCB	U. de Tlemcen
Encadreur	BENDIMERAD. N	MCB	U. de Tlemcen

Année Universitaire : 2016-2017

Remerciement

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

J'exprime mes profonds remerciements à Madame Nahida Bendimerad maitre-conférence « B » à l'université de Tlemcen, Je suis Vraiment chanceuse de vous avoir comme promotrice, pour sa grande disponibilité, son écoute et son suivi tout au long de ce travail. Ainsi que pour sa patience et sa compréhension des situations diverses et variées tout au long de l'élaboration de ce travail. Je vous serai reconnaissante pour le reste de ma vie.

Mes remerciements vont également aux membres de jury d'avoir accepté d'évaluer ce travail, au présidente Madame : BEBLENZA LAMIA et Examinatrice Madame : BELIFA SAMIA l'université de Tlemcen d'avoir accepté de lire et de juger ce travail .qu'il trouve ici l'expression de mes sincères sentiments de gratitude et de respect.

Un mes remerciements spécial et chaleureux à la doctorante Madame KARIMA BOUMEDIENE et MEDJAHDI KHADIDJA pour l'aide permanente qu'ils m'ont apportée tout au long de ma pratique au laboratoire d'avoir pris de son temps pour m'aider dans le cadre de ce travail.

Mes remerciements vont également à mes enseignants qui m'ont accompagné pendant mon cursus universitaire.

Merci 

Dédicace

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

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

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

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

Table de matière

La liste des Tableaux

La liste des Figures:

Liste des abréviations

Introduction	1.
Synthèse bibliographique	2
Chapitre I: LAIT	3
I.1. Définition	3
I.2. Composition du lait	3
I.3. Caractéristique physique et chimique du lait	4
I.4. Source de contamination	5
I.5. Microflore de lait	5
I.6 Les enzymes coagulant le lait	6
I.6 .1.Les enzymes coagulant d'origine animale	6
I.6 .2. Les enzymes d'origine végétales	7
I.6 .3. Les enzymes d'origine microbiennes	7
Chapitre II : les produits laitiers traditionnels	10
II .1 .Raïb	10
II .2. L'ben	10
II .3. Zebda ou Dhan	10
II .4. Smen	11
II .5. Klila	11
II .6.Bouhezza	11
II .7. Takammarit	12

II .8 .Lghaunane.....	12
II .9. Madghissa.....	12
II .10. Kémaria.....	13
II .11. Aoules.....	13
II .12. Méchouna.....	13
II .13. Ibakhbakhane.....	13
II .14.Aghoughlou.....	13
II .15. Jben.....	13
Matériel et méthodes	17
I. échantillonnage.....	17
I.1. Prélèvement.....	17
I. 2.Répartition géographique	18
II Procédé de fabrication du Jben.....	19
III. Analyses physicochimiques du fromage « jben »	20
III .1.Détermination du poids	20
III .2-Détermination du PH	20
III .3 .Détermination de l'acidité titrable	20
III .4.Détermination de la matière sèche et de l'humidité	20
VI. Analyse microbiologique du jben.....	21
VI. 1.Préparation de la solution mère.....	21
VI. 2. Dénombrement des Bactérie mésophile.....	21

VI.3. Dénombrement des bactéries lactiques.....	23
V.I Caractérisation phénotypique des bactéries de contamination.....	23
V.I .1.Isolement et purification	23
V.I .2. Conservation des souches.....	24
V.I .3. Critère morphologique.....	24
V.I .4.Critères biochimiques.....	24
V.I.5. Utilisation de l’api 20 E et l’api Staph.....	24
Résultat et discussion.....	27
I. Analyses physico-chimiques	27
II. Analyse microbiologiques.....	28
II.1.Recherche et dénombrement des bactérie mésophile	28
II.1.1.La flore mésophile totale	28
II.1.2.Coliformes.....	29
II.1.3.Les Streptocoques	30
II.1.4.Les Bacillus	31
II.1.5.Levures et moisissures	31
II.1.6.Les entérobactéries	32
II.1.7.Les staphylocoque	33
II.1.8. dénombrement de la flore lactique	34
III .Identification phénotypique des microorganismes	36
III.1. Critères morphologiques	37
III.2. Critères biochimiques	37
III.3. Utilisation de l’api 20 E et l’api Staph.....	37
Conclusion.....	39

Références bibliographiques	40
--	----

Les annexes

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Composition moyenne du lait de vache (g/l)	3
Tableau 2 : Composition moyenne du lait de différentes espèces animales.....	4
Tableau 3 : Flore originelle du lait cru.....	5
Tableau 4 : Plantes locales d'Algérie utilisées pour la coagulation du lait..	8
Tableau 5 : composition de jben.....	14
Tableau 6 : Qualité microbiologique du fromage frais marocain.....	16
Tableau 7 :Incidence des bactéries lactiques dans les différents échantillons de Jben Naâma.....	16
Tableau 08 : Résultats des analyses physico-chimiques des quatre échantillons de «jben»...	27
Tableau 09 : identification des bactéries contaminant.	37

Liste des Figures

Figure 1 :les Bactéries pathogènes	6
Figure 2 : Fleur du cardon	8
Figure 3 : Barattage traditionnel à l'aide d'une baratte classique(la Chekoua)	11
Figure 4 : Fromage Bouhezza.....	12
Figure 5 : Schéma de fabrication des produits laitiers traditionnels marocain.....	15.
Figure 6 : carte géographique de la région D' Ain Sefra.....	18
Figure 7 :Procède de fabrication de Jben d'Ain Sefra.	19
Figure 8 : Hakka d'agneau non sevrés.....	20
Figure 9 : Plaque API 20E.....	25
Figure 10 : Taux de flore mésophile totale sur milieu PCAà 30°C.....	28
Figure 11 : Taux de coliforme totaux et coliforme fécaux.....	29
Figure 12 : présence coliformes sur milieu BLBVB.....	29
Figure 13 : Taux de Streptocoques fécaux trouvé sur milieu Rothe.....	30
Figure 14 :Taux de Bacillus trouvé sur milieu GN.....	31
Figure 15 : Taux levures et moisissures sur milieu sabouraud.	32
Figure 16 :Taux des Entérobactéries retrouvé dans milieu Mac Conkey.	32
Figure 17 : Taux des Staphylocoques retrouvés dans les quatre échantillons de « Jben »	33
Figure 18 :Taux des lactobacilles sur milieu MRS.	34
Figure 19 :Tauxde Lactocoques sur milieu M17.....	34
Figure 20 :Taux des leuconostocs sur milieu MRS+V.....	35
Figure 21 :Résultats des galeries API Staph.....	36

Liste des abréviations

AFNOR: Association Française de Normalisation

BLBVB : Bouillon lactosé bilié au vert brillan

FAO: Food and Agriculture Organisation

MRS : Man–Rogosa–Sharpe

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

NPP : Nombre plus probable

P.C.A : Plate Count Agar

UFC : Unité Formant Colon

VP : VogesProskauer.

Résumé

Dans toutes les régions de l'Algérie, plusieurs types de fromages sont issus des transformations du lait cru de chèvre, de vache ou de brebis par des méthodes traditionnelles. Parmi les préparations laitières traditionnelles algériennes le « Jben » est fabriqué dans plusieurs régions du pays par différentes méthodes et il est même commercialisé. Ainsi nous sommes intéressé à étudier ce type de fromage en commençant par des analyses physico-chimiques puis microbiologiques

Quatre échantillons de « jben » sont étudiés , ils proviennent de la localité de Ain Sefra .Ils sont préparé à partir de lait cru de vache et « Hakka » qui est une présure préparé traditionnellement pour faciliter la coagulation du lait .

les analyses physico-chimiques montrent que notre « jben » est plus ou moins acide .Les analyses microbiologiques montre qu'il est riche en flore lactique , il contient aussi des germes de contamination fécale tels que les coliformes fécaux, et streptocoques fécaux, il contient aussi des bactéries d'altération comme Bacillus, et les levures et des moisissures .Notre Jben contient aussi un taux élevée d'Entérobactéries et de Staphylocoque .L'identification par les galeries API STAPH et API20E nous révèle l'existence d'*E .coli* et de trois sous espèce de *Staphylocoques* : *Staphylococcus sciniri*, *Staphylococcus saprophyticus*, et *Staphylococcus hominis* .

La présence de ces microorganisme dangereux nous renseigne sur le manque du respect des règles d'hygiène au niveau des fermes (mamelles sales , mauvais nettoyage, animaux malade, machine à traire contaminé ,ect.....), qui rendent le lait contaminé et le manque de l'hygiène aussi pendant la fabrication du jben .

Mots clé : Jben, Analyses physicochimiques, microbiologique bactéries pathogène, identification .

Abstract

In all regions of Algeria, several types of cheese are derived from the processing of raw goat, cow or sheep milk by traditional methods. Among the traditional Algerian dairy preparations "Jben" is manufactured in several regions of the country by different methods and is even marketed. Thus we were interested in studying this type of cheese starting with physico-chemical and then microbiological analyzes

Four samples of "jben" are studied, they come from the locality of Ain Sefra. They are prepared from raw cow's milk and "Hakka" which is a rennet traditionally prepared to facilitate the coagulation of milk.

The physico-chemical analyzes show that our "jben" is more or less acidic. Microbiological analyzes show that it is rich in lactic flora, it also contains fecal contamination germs such as fecal coliforms, and faecal streptococci, it contains Also bacteria of alteration like Bacillus, and yeasts and molds. Our Jben also contains a high level of Enterobacteriaceae and Staphylococcus. The identification by the galleries API STAPH and API20 E reveals the existence of Esherichia coli; And three Staphylococcus species: Staphylococcus sciniri, Staphylococcus saprophyticus, and Staphylococcus hominis

The presence of these dangerous microorganisms informs us about the lack of respect for hygiene rules on farms (dirty breasts, bad cleaning, sick animals, contaminated milking machine, ect ...), which make the milk contaminated and Lack of hygiene also during the manufacture of jben.

Keywords: Jben, Physicochemical analysis, microbiological pathogenic bacteria, identification.

ملخص

في جميع مناطق الجزائر، عدة أنواع من الجبن تأتي من التحول حليب البقر أو الأغنام والماعز الخام بالطرق التقليدية. ومن بين الاستعدادات الألبان التقليدية الجزائرية "الجبن" يتم في عدة مناطق من البلاد بطرق مختلفة، وحتى يتم تسويقها. لذلك نحن مهتمون في دراسة هذا النوع من الجبن بدءا من تحليل الفيزيائية والكيميائية والميكروبيولوجية من هذه الدراسة قمنا بتحليل أربع عينات من الجبن المصنوع بمنطقة عين صفراء من البقر الخام واستخدام المنفحة الحيوانية " الحكة " التي أعد تقليديا لتسهيل تخثر الحليب. تظهر التحاليل الفيزيائية والكيميائية أنها اقل أو أكثر حمضية، والتحليل الميكروبيولوجية تبين أن غنية في النباتات اللاكتيك، كما أنه يحتوي على البكتيريا التلوث برازي مثل : عينات تحتوي على البكتيريا التلوث برازي مثل : Bacillus, les levures, les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux moisissures وأيضا والبكتيريا المسببة للأمراض والتي تم تحديدها API STAPH وAPI20E *Staphylococcus sciniri*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus homini* *Escherichia coli*, وجود هذه الكائنات الحية الدقيقة الخطيرة يخبرنا عن عدم الامتثال لقواعد النظافة على مستوى المزرعة (الضروع القذرة، والحيوانات المريضة، الملوثة آلة الحليب، الخ ...) التي تجعل من الحليب الملوث و انعدام النظافة أيضا أثناء تصنيع الجبن.

الكلمات المفتاحية: الجبن، التحليل الفيزيوكيميائية والميكروبيولوجية. البكتيريا المسببة للأمراض.

Introduction

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

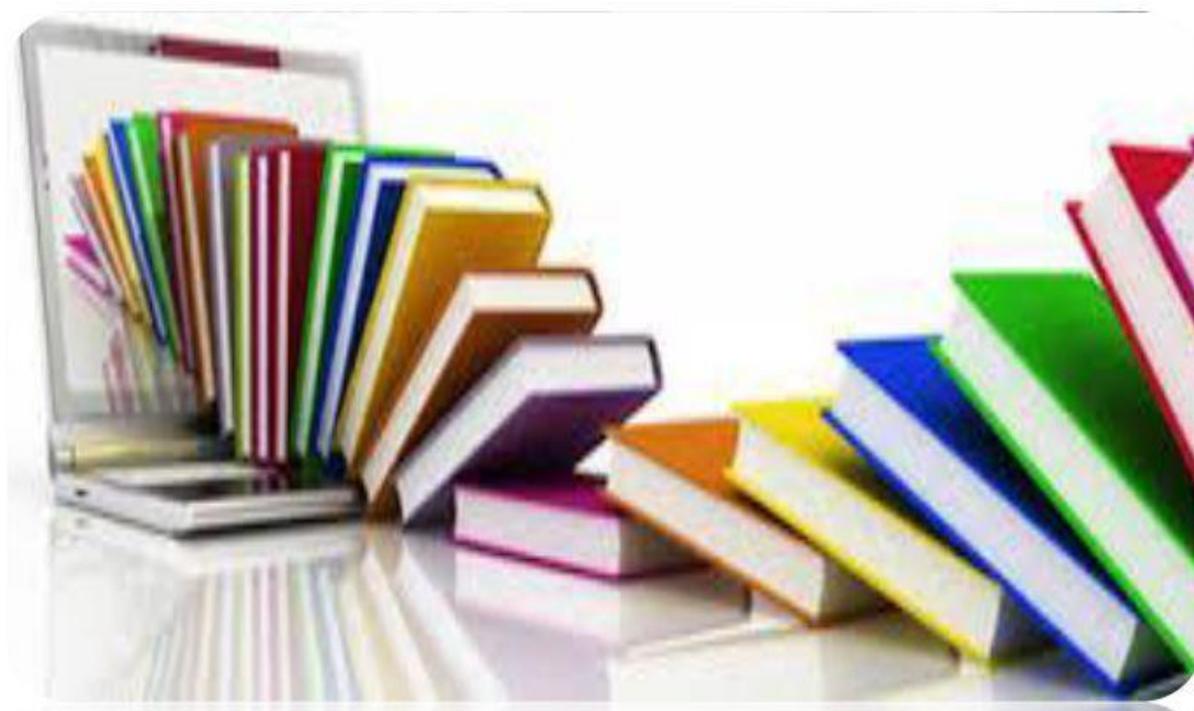
Notre pays a une tradition bien établie sur les produits laitiers, qui a un aspect important de la culture Algérienne. Cette tradition est transmise d'une génération à une autre à travers des siècles. Une grande variété de produits laitiers fermentés est préparée traditionnellement en Algérie dont le but est la bio-préservation du lait. (**Benkerroum et al.,2004**).

Chaque fromage traditionnel est caractérisé par un lien fort avec son terroir d'origine et atteste de l'histoire et de la culture de la communauté qui le produit. Chaque fromage traditionnel a des caractéristiques organoleptiques spécifiques. Ces caractéristiques sont liées à divers facteurs, comme l'environnement, le climat, la prairie naturelle, la race des animaux, l'utilisation du lait cru et de sa microflore naturelle (**Licitra, 2010**).

Parmi les produits laitiers traditionnels fabriqués en Algérie « le jben » c'est un fromage frais préparé traditionnellement à partir du lait cru de vache, de brebis ou de chèvre. Le lait est coagulé grâce une enzyme d'origine animale appelée « Hakka » qui ne peut être que de la présure bovine, de brebis ou de chèvre. Ceci pour certaines régions, dans d'autres régions, la présure est remplacée par une enzyme d'origine végétale comme la fleur de Cardon ou d'Artichaut.

Durant notre étude nous avons eu la possibilité d'avoir quatre échantillons de « Jben » fabriqué avec du lait de vache en utilisant une enzyme de nature animale « Hakka ». Ces échantillons ont subi dans un premier temps des analyses physico-chimiques puis microbiologiques soit la recherche de la flore pathogène et d'altération et la flore lactique présente dans le « jben ».

Synthèse bibliographique



Chapitre 01 :

LAIT

I.1- Définition :

Le lait destinée à l'alimentation humaine a été défini en 1909 par le congrès international de la répression des fraude : « le lait est le produit intégrale de la traite totale est ininterrompu d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée .Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum » (**Achezegag et al ., 2008**).

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

Le lait est un aliment de couleur généralement blanchâtre produit par les mammifères femelles (**kechaoui, 2013**).

I.2- Composition du lait :

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

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

Tableau1 : Composition moyenne du lait de vache (g/l) (**Methieu, 1998**).

Constituant du lait	Teneur en gramme par litre
Eau	90,2
Constituant salins minéraux	6,9
Gaz dissous	0,1
Constituant organique	1,7
Lactose	49
Matière grasse	38
Caséine	32
Protéines dites solubles	26
constituants azotés non protéiques	6
Autres constituants	1,5

Le tableau suivant montre la composition des différentes espèces animales

Tableau2:Composition moyenne du lait de différentes espèces animales. (Vignola et al.,2002)

Animaux	Eau (%)	Matière grasse (%)	Protéines (%)	Glucides (%)	Minéraux (%)
Vache	87.5	3.7	3.2	4.6	0.8
Chèvre	87.0	3.8	2.9	4.4	0.9
Brebis	81.5	7.4	5.3	4.8	1.0
Chamelle	87.6	5.4	3.0	3.3	0.7
Jument	88.9	1.9	2.5	6.2	0.5
Femme	87.1	4.5	3.6	7.1	0.2

Les principaux constituants du lait par ordre croissant selon **Pougheon et Goursaud ,(2001)** sont :

- L'eau, très majoritaire,
- Les glucides principalement représentés par le lactose,
- Les lipides, essentiellement des triglycérides rassemblés en globules gras,
- Les sels minéraux à l'état ionique et moléculaire,
- Les protéines, caséines rassemblées en micelles, albumines et globulines solubles,
- -Les éléments à l'état de trace mais au rôle biologique important, enzymes, vitamines et oligoéléments.

I.3- Caractéristique physique et chimique 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 compris entre6.5 et 6.8 pour le lait de vache et entre 6.2 et 6.82 pour le lait de chèvre, pour le lait humain, il est 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 (**Dillon,2008 ;Hebboul et al.,2005**).

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

Le lait est un produit très complexe. Une connaissance approfondie de sa composition, de sa structure et de ses propriétés physiques et chimiques est indispensable à la compréhension de ses différentes transformations (**Amiot et al., 2002**).

I.4-Sources de contamination :

Le lait est généralement contaminé par une grande variété de microorganismes d'origine diverse. Cette contamination peut provenir de l'animal (intérieur ou extérieur de la mamelle), de l'environnement (sol, atmosphère, eau...), du matériel servant à la collecte du lait (machines à traire, filtre, récipients divers) et aussi de l'homme.

Certains microorganismes constituent un danger pour la consommation du lait cru ou de produits fabriqués avec du lait cru. D'autres sont seulement des agents d'altération de ces produits, ils dégradent les composants du lait en donnant des produits de métabolisme indésirables (**Richard, 1990 ; Guiraud, 1998**)

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

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

I.5-Microflore de lait :

I.5.1-Flore originale :

Lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, le lait contient essentiellement des mésophiles (**Vignola et al, 2002**). Il s'agit de microcoques, mais aussi streptocoques lactiques et lactobacilles. Ces microorganismes, plus ou moins abondants, sont en relation étroite avec l'alimentation (**Guiraud, 1998**) et n'ont aucun effet significatif sur la qualité du lait et sur sa production (**Sutherland et Varnam,2001**). Le tableau suivant regroupe les principaux microorganismes originels du lait avec leurs proportions relatives.

Tableau3 : Flore originelle du lait cru (**Vignola et al.,2002**)

Microorganismes	Pourcentage(%)
Micrococcussp	30-90
Lactobacillus	10-30
Streptococcus ou Lactococcus	<10
Gram négatif	<10

I.5 .2- Flore pathogène :

Des microorganismes peuvent se trouver dans le lait, lorsqu'il est issu d'un animal malade. Il peut s'agir d'agents de mammites, c'est-à-dire d'infections du pis : comme *Streptococcus pyogenes*, *Corynebactériumpyogenes*, Staphylocoques, etc.... Il peut s'agir aussi de germes d'infection générale comme : *Brucella*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonellasp*, *Escherichia coli*, *Clostridiumperfringens*, *Campylobactersp*, *Mycobacteriumbovis* et *M.tuberculosis*, *Bacillusanthraci*, *Coxiellaburnetii*, ou de germes de contamination du lait.



Figure1 : Bactéries pathogènes (Prescott et al., 2003)

I.5 .3-Flore d'altération :

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

I.6-Enzymes coagulants le lait :

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

I.6.1-Enzymes d'origine animales :

I.6.1.1- Présure :

I.6.1.1.1- Origine et dénomination :

La présure de veau est la préparation coagulante traditionnelle la plus utilisée pour la coagulation du lait (Alais, 1984 ; Wigley, 1996). De moindres quantités sont obtenues à partir de l'estomac de chevreau et d'agneau, La dénomination présure est réservée à l'extrait coagulant provenant de la troisième poche de l'estomac appelée abomasum ou caillette. Elle

renferme deux enzymes actives. La chymosine est la protéase majeure responsable d'au moins 85% de l'activité coagulante totale, le complément est apporté par la pepsine. On observe les plus fortes teneurs en chymosine chez les animaux non sevrés ; dès que la ration alimentaire renferme des aliments solides et que le jeune animal commence à brouter, la proportion de chymosine chute très fortement ; à l'inverse, la pepsine devient dominante et caractérise la sécrétion stomacale du mammifère adulte (**Cogitore, 1982**).

I.6.1.1.2- Les composants de la présure :

- **La chymosine :**

La chymosine est la protéase majeure responsable d'au moins 85% de l'activité coagulante totale (**Ramet, 1997**). Elle est synthétisée sous forme de prochymosine, activée sous l'action du suc gastrique. Elle subit alors une conversion en chymosine active.

- **La pepsine :**

La pepsine est le constituant mineur de la présure dont la sécrétion gastrique ne devient prépondérante qu'après sevrage (**Ramet, 1997**). A l'opposé de la chymosine, la pepsine possède une activité protéolytique élevée et une faible activité coagulante. D'après (**Broome et Hickey, 1990**), 20% de l'activité coagulante est assurée par la pepsine dans la fabrication fromagère (Cheddar, Emmental,...)

I.6.2- Les enzymes d'origine végétales :

Les préparations coagulantes provenant du règne végétale sont extraites par macération de divers organes de plantes supérieures, tel que le gaillet, l'artichaut, la chardon qui ont été et ou sont encore utilisés dans des fabrications de fromages de fermiers, ainsi que le latex du figuier. Malgré les inconvénients évoqués précédemment, des études récentes ont été réalisées par différents auteurs, qui approuvent quelques avantages aux protéases extraites des végétaux (**Tableau04**). Ces dernières, sont plus stables à la chaleur par rapport aux protéases d'origine microbienne et animale (**Talantikite-Kellil, 2015**).

Tableau4:Plantes locales d’Algérie utilisées pour la coagulation du lait (**Talantikite-Kellil S, 2015**).

Nom scientifique	Nom vulgaire		
	Français	Anglais	Algérien
<i>Cynara scolymusL.</i>	Artichaut	Artichocke	Karnoune
<i>Cynara cardunculus L.</i>	Cardon	Cardoon	Thaga/ khorchef
<i>SeneciojacobaeaL.</i>	Séneçon	Ragwort	Debouz-el-arabe
<i>Ficus carica L.</i>	Figuier	Figtree	Kerma



Figure2 : Fleur du cardon (www.blogs-afrique.info)

I.6.3-Les enzymes d'origine microbiennes :

En pratique, l’utilisation des préparations enzymatiques microbiennes a été soumise à une stricte réglementation, imposant des contrôles hygiéniques (liés à leur production et extraction) et toxicologiques sévères, afin d’éviter tout risque de toxicité lié à la présence d’antibiotiques et/ou d’aflatoxines (**Noor-Devillietetal., 1983**). Ces coagulants peuvent être facilement produits par fermentation.

Toutefois, ils montrent une forte activité protéolytique pendant la fabrication du fromage, ce qui peut entraîner une perte de protéine, un rendement plus faible, et la génération de saveur désagréable (**Harboe et al ., 2010**).

On distingue deux catégories de protéases microbiennes : les succédanes d'origine bactérienne et les succédans d'origine fongique.

I.6.3.1-D'origine bactérienne :

Depuis une quarantaine d'années, une puissante industrie de transformations s'est développée dans le monde. Elle produit des substances variées dont une grande partie d'enzymes qui trouvent de nombreuses applications dans des secteurs industriels variés et en particulier des protéases susceptibles de coaguler le lait.

Ce sont surtout les souches du genre *Bacillus* : *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus polymixa* et *Bacillus coagulans*, qui ont fait l'objet de plusieurs recherches pour la production de coagulases. Leur utilisation demeure limitée par suite de réglementation stricte et leur prix de revient. D'autre part, leur aptitude à la coagulation est meilleure que celle d'origine végétale et moins bonne que celle des enzymes produites par les moisissures. Les caillés obtenus manquent de cohésion du fait d'une trop forte activité protéolytique par comparaison à la présure animale (Alais , 1984).

I.6.3.2-D'origine fongique :

au contraire, ont donné des résultats meilleurs, souvent comparables à ceux obtenus avec la présure (Pa) ; plusieurs préparations sont déjà commercialisées sur le marché international et utilisées à plus ou moins grande échelle selon les pays. Ces préparations proviennent de trois genres de moisissures : *Endothioparasitica*(E.p.), *Mucor pusillus* (M.p.), *Mucor miehei* (M.m.).

Chapitre 02 :

PRODUITS LAITIERS TRADITIONNELS

II . Produits laitiers traditionnels:

C'est l'augmentation de la production du lait durant certaines saisons et la difficulté de sa conservation sous la forme fraîche, a conduit au développement des technologies de productions traditionnelles .La transformation du lait en produits laitiers traditionnels algériens fait partie intégrante de l'héritage et a une grande importance culturelle médicinale et économique.(**Lahsaoui, 2009**)

II.1- Raïb :

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

II.2- L'ben :

Le Lbenest fabriqué à partir du Rayeb qui est baratée dans une outre appelée « Chekoua »faite de peau de chèvre, le barattage dure 30 à 40 minutes. (**Ouadghiri, 2009 ; Benkerroum et Tamime, 2004**).

La composition physico-chimique du Lben varie en fonction de la nature du lait utilisé, de la coagulation, de l'intensité de l'écémage et la quantité d'eau additionnée lors du mouillage (**Aissaoui, 2004**).

II.3-Zebda ou Dhan :

En Algérie les fermiers fabriquent du beurre(connus sous le nom de zebdabeldia ou Dhan selon les régions)en utilisant une méthode traditionnelle.

Le Raïb est baraté pour obtenir le lben , après barattage, on ajoute généralement un certain volume d'eau (environ 10 % du volume du lait) chaude ou froide suivant la température ambiante, de façon à ramener la température de l'ensemble à un niveau convenable au rassemblement des grains de beurre .On agite un peu pour la formation de mousse ou s'accumulent les globules .L'agitation permet ensuite la libération de la graisse liquide, la mousse tombe brusquement avec formation de grains de beurrebaignant dans le lben, qui grossissent sous l'action de l'agitation. On procède ensuite au « ramassage »des grains en présence d'une petite quantité d'eau jusqu'à obtention des morceaux de beurre de la dimension du poing enfin ,on effectue le malaxage qui a pour but de ressembler les morceaux de beurre (**Abdelmalek ,1978**).



Figure3: Barattage traditionnel à l'aide d'une baratte classique(la chekoua)(**Samet-Baliet al .,2009**).

II.4-Smen :

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

II.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**).

II.6-Bouhezza:

C'est un fromage affiné traditionnel, à pâte molle, préparé à l'origine à partir du lait de chèvre ou de brebis, mais actuellement il est préparé à partir du lait de vache. Il est très répondeu dans l'Est Algérien, plus précisément dans les régions de Oum Bouaghi, Khenchela, et dans certains régions de Batna (**Mekentichi, 2003**)

Le fromage est obtenu après transformation du Lben dans la Chekoua, préalablement traitée avec du sel et du genièvre L'égouttage, le salage et l'affinage du Bouhezza sont réalisés simultanément dans la Chekoua pendant une durée de 2 à 3 mois. Au cours de la période

d'affinage, du Lben et du lait sont rajoutés 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 (Aissaoui et al., 2006).



Figure4: Fromage Bouhezza (Aissaoui zitoun et Zidoune, 2006).

II.7-Takammarit :

C'est un fromage de la région du Hoggar, il est fabriqué par introduction dans le lait d'un bout de caillette du jeunes chevreaux. Après quelques heures, le caillé est retiré à l'aide d'une louche et déposé en petits tas sur une natte pour être pétri afin d'évacuer tous le sérum. Puis le caillé est déposé dans une autre natte faite de tige de fenouil sauvage qui lui donne un certain arôme. Les nattes sont ensuite placées à l'ombre jusqu'au durcissement du fromage.

Le fromage peut subir un affinage durant un mois (Bousnane et Djadi, 2009).

II.8-Lghaunane :

Fromage fabriquée dans les régions de la grande Kabylie. Il est fait à partir du colostrum qui est mis dans un ustensile en terre cuite enduits d'huile d'olive. Après quelques jours, le fromage est découpé et prêt à être consommé (Lahsaoui, 2009).

II.9-Madghissa :

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

II.10-Kémaria :

Kémaria est un type de fromage traditionnel d'une valeur de consommation très remarquable dans la wilaya de Ghardaïa. Il est fabriqué par le lait cru de vache pour une fabrication industrielle et à base du lait de chèvre pour une fabrication domestique. La Kémaria peut être également obtenu à partir d'un mélange de lait de vache ou de chèvre avec du lait de chamelle en utilisant une présure animal ou une enzyme végétale (un extrait d'artichaut disponible dans le commerce) à raison de 20g pour 20litre sont introduite dans le lait pendant 1/2 heure jusqu'à sa coagulation. Après séparation du caillé et lactosérum , il y a moulage (**Harrouz et Oulad hadj ,2007**)

II.11-Aoules :

Il est fabriqué à partir du lait de chèvre qui est extrêmement aigre. Après une coagulation intense, le fromage obtenu a une pâte dure (matière sèche représente 92%). L'égouttage se fait dans une paille , ensuite le fromage est reformé sous forme des boules plates séchées au soleil, il peut être consommé en mélange avec les dattes (**Abdelaziz et aïtkaci., 1992**).

II.12-Méchouna :

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

II.13-Ibakhbakhane :

Originnaire de la région de Aurès, Ibakhbakhane est produit a partir d'une mixture de frik d'orge (Marmaz) et de lben soumis a une fermentation a des températures inférieures a 20°C par immersion dans un puits pendants 2 a 5 jours (**Mahamedi,2015**).

II.14-Aghoughlou :

Fromage fabriqué en Kabylie, il est obtenu a partir de lait frais de vache ou de chèvre coagulé par la sève du figuier (**Mahamedi,2015**).

II.15-jben :

II.15.1-Définition :

Le « Jben » est le fromage frais le plus connu et consommé depuis fort longtemps aussi bien en milieu rural qu'en milieu urbain. Dernièrement, la consommation de ce produit s'est accrue suite à l'installation dans les villes d'un grand nombre de laiteries traditionnelles qui préparent le «Jben» à partir du lait cru selon des procédures souvent artisanales. A côté de ce secteur traditionnel, certaines unités laitières semi-industrielles se sont aussi intéressées à la

fabrication du «Jben», utilisant du lait, soit cru, soit pasteurisé, et des procédures de préparation plus ou moins améliorées. De ce fait, il existe aujourd'hui de nombreuses méthodes de préparation du «Jben», et par conséquent, plusieurs variétés de Fromage frais sont commercialisées au Maroc sous la dénomination populaire commune de "Jben" (Benkerroum et Tamime 2004). Dans d'autres pays arabes ce fromage est nommé Jibneh Beida (Bendimerad, 2013). Sa composition est donnée dans le tableau suivant

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

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

II.15.2- Préparation du jben :

Traditionnellement, le Jben est fabriqué avec du lait cru de vache ou du lait de chèvre, Le lait destiné à la fabrication est chauffé, une fois tiède, un fragment de caillette bovine (hakka) est macéré dans le lait. Après coagulation du lait, le caillé est collecté et enroulé dans un tissu propre puis pressé pour égouttage. Un fois égoutté, il peut être salé ou additionné de quelques épices ou de plantes aromatiques, le caillé est découpé en petits morceaux irréguliers (Lahsaoui, 2009).

D'autre type de Jben sont obtenu par coagulation enzymatique en utilisant des enzymes coagulantes d'origine végétale issues des fleurs de cardon (*Cynaracardunculus L*), d'une plante épineuse sauvage (*Cynarahumilis*) ou d'artichaut (*Cynarascolymus*), du latex de figuier (*Ficus carica*) ou des graines de citrouille Les fleurs entières sont mises à macérer dans le lait. Le végétal est utilisé pour accélérer la coagulation et pour donner un certain goût au fromage. (Nouani et al, 2009).

Comme décrit au Maroc par Benkerroum et Tamime (2004) le processus de fabrication nécessite trois grandes étapes essentielles (Figure 5) : l'acidification, la coagulation et l'égouttage. Dans ce cas, le lait cru est seulement coagulé par l'acidification spontanée, puis le caillé est égoutté pendant 2 à 3 jours pour obtenir la consistance désirée. Des additifs peuvent être ajoutés après égouttage et salage (ail, persil, poivre,.....).

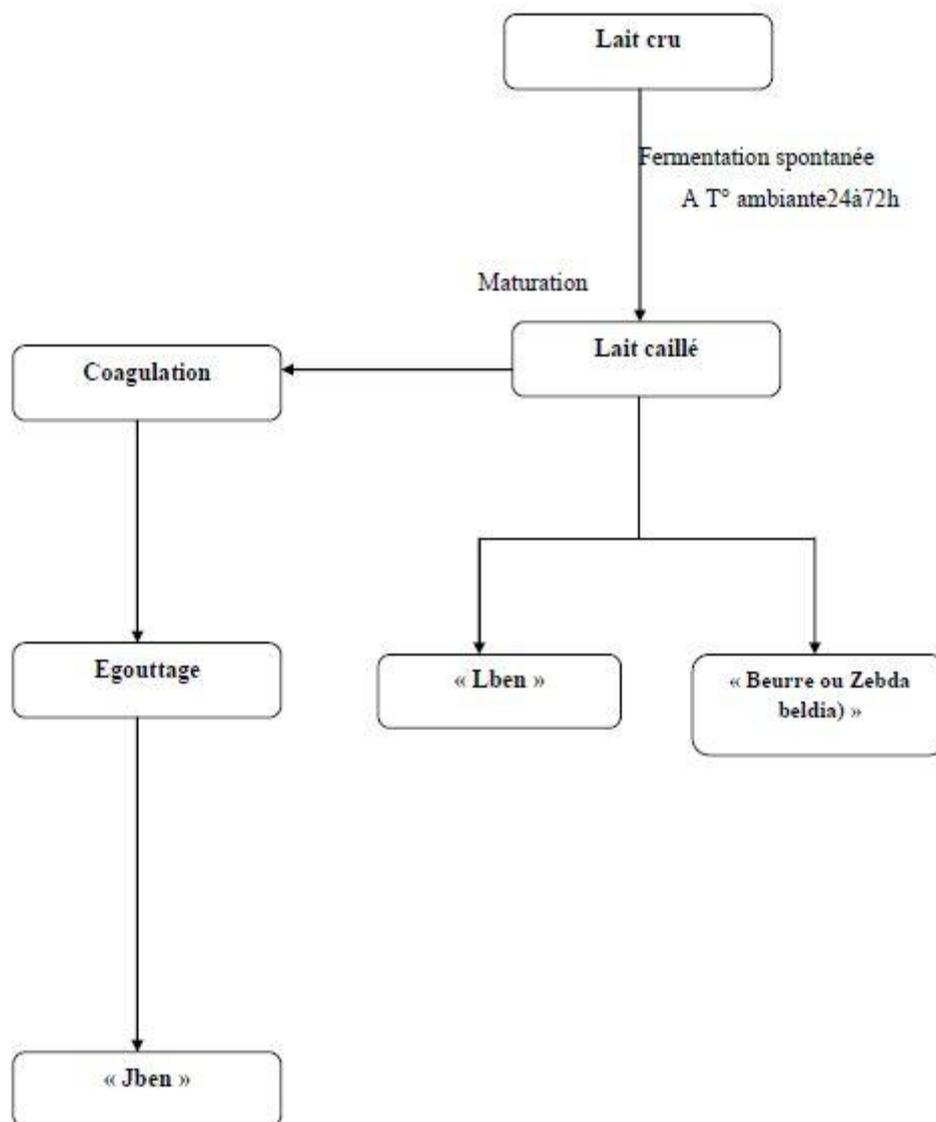


Figure 5: Fabrication des produits laitiers traditionnels marocain (Benkerroum et Tamime 2004).

II.15.3- Caractéristiques physiques et chimiques du J'ben:

le fromage frais « Jben » ne présente pas de caractéristiques définies à cause des méthodes artisanales utilisées pour sa préparation reposant essentiellement sur les connaissances acquises à partir d'une longue expérience (Salmeron et al., 2002). Les caractéristiques physico-chimiques, les arômes et les propriétés organoleptiques du fromage dépendent de celles du lait cru qui à son tour dépend de la race des animaux et leur type d'alimentation (Poznanski et al., 2004).

Généralement, Le pH (< 4,2) et l'acidité titrable (> 0,9%) sont les paramètres les moins variables du « Jben ». Cependant, les matières solides totales du « Jben » sont le facteur le plus variable car ce dernier dépend de la durée d'égouttage. Étant donné que les lipides, le lactose

et les protéines constituent les principaux composants de l'ensemble des matières solides en « Jben », ils sont directement influencés par les variations des dites matières solides (Benkerroum et Tamime 2004).

II.15.4-Microflore du jben :

Tableau 6 : Qualité microbiologique du fromage frais marocain(Hamama,1989).

Nombre d'échantillons	Acidité lactique %	Flore Aérobie Totalité (10 ⁶)	Coliforme Totaux/fécaux (10 ³ /g.)		Entérocoque (/10 g)	<i>S.aureus</i> (/10g)	Salmonella dans 25g
30	0.99	250	200	90	530	70	10(dans trois échantillons)

Le jben marocain contient des germes de contamination fécale et des germe pathogènes.

Tableau 07: Incidence des bactéries lactiques dans les différents échantillons de Jben Naâma(Dahouet al.,2015) .

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

La microflore du « Jben » de Naâma généralement dominée par les bactéries lactiques montre que les lactococcus sont présents dans les 03 échantillons de « Jben » analysés avec un taux important (Dahou et al.,2015) .

Matériel et Méthodes



I. Échantillonnage :

I. 1 -Prélèvement

Quatre échantillons sont prélevés de la région d'Ain Sefra, Les prélèvements sont transportés dans une glacière. Arrivé à Tlemcen, ils sont mis au congélateur en attendant les analyses.

I. 2-Répartition géographique : Ain Sefra est une commune de la wilaya de Naâma, située dans l'Ouest du pays sur la route nationale 4, à 65 km au sud de Naâma à 101 km de Mecheria et à 338 km de Tlemcen. Ain Sefra est connu par sa fabrication traditionnelle et même la commercialisation du fromage frais appelé «Jben».

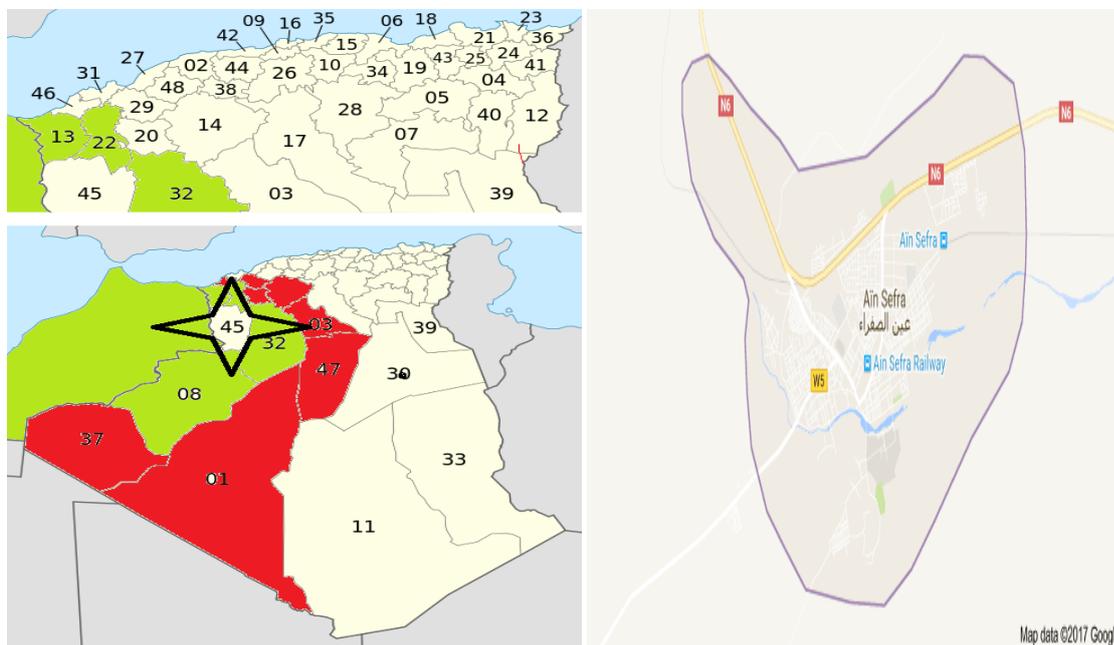


Figure 6 : Carte géographique de la région de Ain Sefra

II. Fabrication du jben traditionnel:

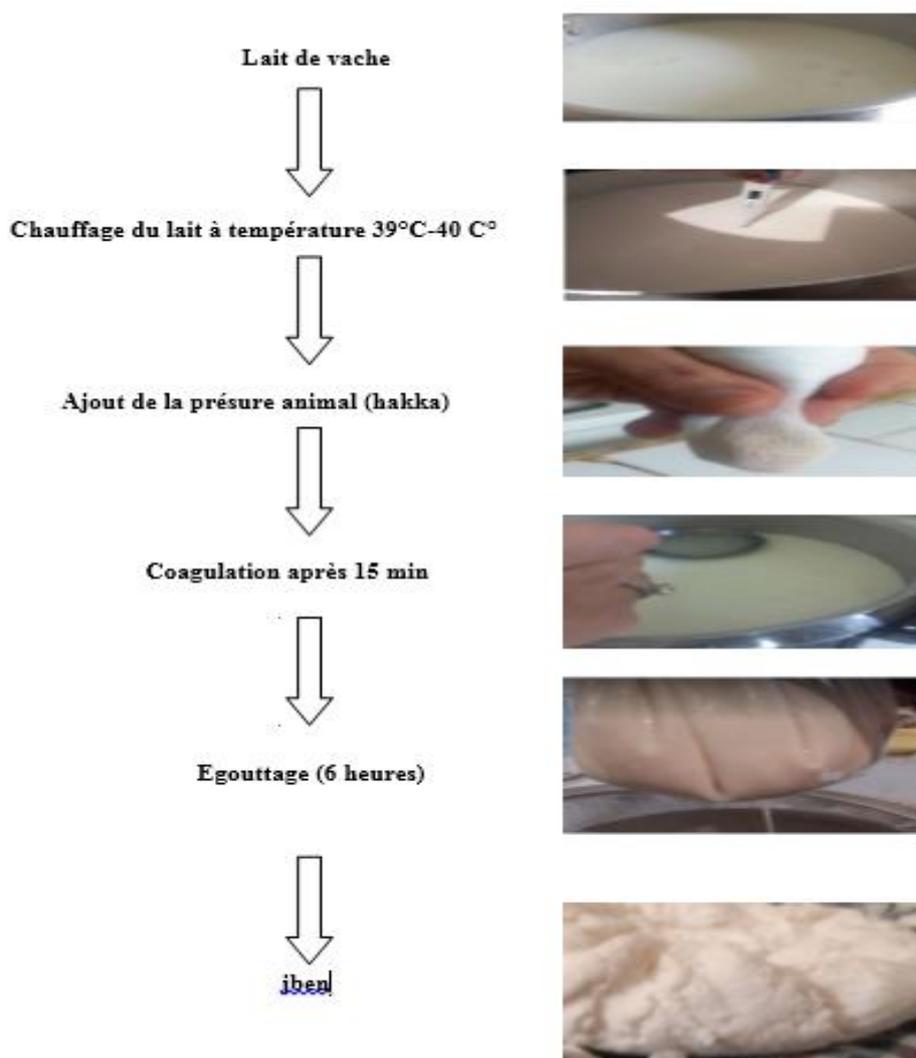


Figure 7: Procèdes de fabrication de Jben d'Ain Sefra.

Le lait cru de vache est mis à chauffer dans un récipient, puis un morceau de hakka (présure animal) est mis dans un tissu poreux puis plongée de temps à autre dans le lait 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, en même temps il est pressé. Une fois égoutté, le caillé est découpé en petits morceaux irréguliers est mis à sécher

✓ **Utilisation de Hakka :**

Les gens des milieux ruraux préparent traditionnellement la présure dite Hakka à partir de la caillette de veau, de chevreau, ou d'agneau non sevrés, pour la fabrication du Jben.

✓ **Préparation :**

La caillette est extraite des jeunes ruminants après abattage, qui ne boivent que du lait à leur naissance, après salage elle est attachée à un fil propre et accrochée en exposition au soleil loin de l'humidité pour accélérer le séchage. La durée de séchage est de 2 semaines pendant les saisons chaudes mais peut durer jusqu'à 1 à 2 mois pendant les saisons froide.



Figure 8: Hakka d'agneau non sevrés

III. Analyse physicochimique :

III .1-Détermination du poids :

Après égouttage, le fromage est mis dans un pot puis pesé à l'aide d'une balance électronique.

III .2-Détermination du PH :

10g de Jben sont mélangé avec 90 ml d'eau distillée, puis homogénéisé. Le PH de l'échantillon est déterminé après une heure en utilisant un PH-mètre numérique où l'électrode a été insérée directement dans l'échantillon, La valeur est lue directement sur l'écran de l'appareil trois répétitions sont réalisées (Owusu-Kwarteng et al.,2012).

III .3 -Détermination de l'acidité titrable :

90 ml d'eau distillée stérile est chauffé à une température de 40°C sont ajoutés à 10 g de fromage. Le mélange est bien homogénéisé, puis 10 ml de cette suspension est titrée par la

soude N/9, en présence de phénol phtaléine. La phénolphtaléine indique la limite de neutralisation par changement de couleur(rose pâle), Le résultat est exprimé en degré Dornic par gramme de fromage (°D/g) (**Afnor, 1986**)

1ml —————> 10°D
 1°D —————> 0.01% d'acide lactique

III .4-Détermination de la matière sèche:

La méthode consisté à mettre 5 g de fromage dans une capsule d'étuvage qui est placée dans une étuve à une température comprise entre 101°C et 105 °C pendant 3 heures. 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. Le résultat est calculé selon la formule :

$$\text{EST} = (\text{P3} - \text{P1}) / (\text{P2} - \text{P1}) * 100$$

Avec :

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

III .5-Détermination du taux d'humidité

Le taux d'humidité (Hm) est ensuite calculé selon la formule suivante(**Quseam et al, 2009**).

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

VI. Analyse microbiologique

VI. 1-Préparation de la solution mère

25 g de chaque échantillon sont mélangé avec 100 ml d'une solution de citrate de sodium à 2%, le mélange est homogénéisé à une température entre 40°C et 45°C à l'aide d'un vortex. Les dilutions décimales sont préparées en mélangeant 10ml avec90ml d'eau peptonée stérile à 0,1%.

VI. 2- Dénombrement des bactéries mésophiles :

VI. 2 .1- Germes totaux :

sont dénombrés sur milieu PCA .1ml de la dilution est inoculé en profondeur .Les boites sont incubée à 30°C pendant 48h. Tous les ensemencements se font en double.

VI.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 ml 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).**

VI.2.3- Entérobactéries :

pour le dénombrement des entérobactéries 1 ml de la dilution est inoculé en profondeur sur milieu Mac Conkey solide .Incubation 24 h à 37 °C.

VI.2.4- Coliformes :

La recherche des coliformes dans nos échantillons est réalisée en milieu liquide qui est le bouillon lactosé bilié au vert brillant (BLVBL) en appliquant la technique du Nombre le Plus Probable (NPP). Ce milieu est réparti dans des tubes à raison de 10ml/tubes, munis d'une cloche de Durham. Après ensemencement de neuf tubes de BLBVB par échantillon, et incubation 37°C à 24h, la lecture des résultats se fait en utilisant la table de Mac Credy **(Arrêté du 24 mai 2004 publié dans le JORA n° 43 du 4 juillet 2004)**

VI.2.5- La recherche de Escherichia coli :

le test de Mac Kenzie qui à partir d'un tube positif de BLBVB ,un autre tube de BLBVB stérile est repiqué et un tube d'eau peptonée exempt d'indole est aussi ensemencé., si les deux tubes sont positifs on confirme la présence d'*E .coli* parmi les coliformes **(Arrêté du 24 mai 2004 publié dans le JORA n° 43 du 4 juillet 2004).**

VI.2.6- Salmonella :

les Salmonella sont dénombrés sur milieu solide SS après leur enrichissement dans un bouillon au sélénite SFB. les milieux SFB et SS sont incubés à 37 °C pendant 24 h **(Arrêté du 23 janvier 2005 publié dans le JORA n° 42 du 15 juin 2005.)**

- Pré-enrichissement : 25 g de jben à analyser sont introduits dans un flacon contenant 225 ml d'eau peptonée tamponnée préalablement stérilisé. La préparation est homogénéisée sur vortex et incubée à 37°C pendant 16 à 20 heures.
- Enrichissement : A partir du milieu eau peptonée, 10 ml sont inoculés en double dans des flacons de bouillon au sélénite cystéine SFB, l'incubation se fait à 37°C et à 43°C.

-Chaque flacon fera l'objet d'un isolement sur deux milieux gélosés différents à savoir : milieu gélosé Hektöen et Gélose SS. Puis incubation à 37 °C pendant 24h

VI.2.7- Streptocoques fécaux :

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

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

VI.2.8- Staphylocoque :

Staphylococcus aureus est recherché sur milieu Chapmanensemencé à la surface avec 0.1 ml de la dilution, puis incubé à 37 °C pendant 24 h à 48h.

VI.2.9-Clostridium :

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

VI.2.10- Bacillus :

les spores de Bacillus sont recherchées sur gélose nutritive. 5ml de la dilution sont mise dans des tubes stériles et subissent un traitement thermique à 80 °C pendant 10 min. les tubes sont refroidis à la glace puis 0.1ml de chaque dilution sont ensemencés à la surface de la gélose nutritive

VI.3- Dénombrement des bactéries lactiques :

VI.3.1- Les lactobacilles :

la gélose MRS est utilisé 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.

VI.3 .2- Les 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.

VI.3 .3- Les Leuconostocs :

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.

V- Caractérisation phénotypique des bactéries de contamination**V.1- Isolement et purification :**

A partir des milieux, Chapman, Mac Conkey et GN, des colonies d'aspects différents sont prises au hasard et ensemencé sur bouillon nutritif puis incubées pendant 24h. S'il ya un trouble dans les bouillons, des passages successifs et alternes bouillon/gélose sont effectuées pour purifier les souches sélectionnées.

V.2- Conservation des souches :

Elle est à courte durée c'est-à-dire les cultures sont conservée au réfrigérateur sur gélose en tube incliné pendant trois semaines.

V.3 -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.

V.4 -Critères biochimiques

V.4.1 -Test de catalase: la catalase est une enzyme capable de dégrader le peroxyde d'hydrogène (2H₂O₂) produit par certaines bactéries pendant leur respiration aérobie. La mise en évidence de cette enzyme est réalisée par l'ajout d'une goutte d'eau oxygénée sur une colonie bactérienne. La réaction positive se traduit par un dégagement de gaz qui indique la présence d'enzyme catalase.



V.4.2 -Test d'oxydase : un disque d'oxydase est mis dans une suspension bactérienne, le résultat positif se traduit par l'apparition de couleur violette (Marchal et al., 1982)..

V.5- Utilisation de l'api 20 E et l'api Staph :

La galerie API comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs. La lecture se fait à l'aide de tableau de lecture, et l'identification est obtenue à l'aide d'un catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification. Les API20E sont utilisés pour les entérobactéries, les APIStaph sont utilisés pour les Staphylocoques et Microcoques. (voir annexe 3).

Le mode opératoire consiste à :

- Mette de l'eau distillée dans le fond de la plaquette pour créer une atmosphère humide
- Réaliser une pré-culture de 24h sur gélose, puis prélever une colonie et la mettre dans le medium de la plaque API pour préparer une suspension bactérienne.
- remplir les tubes à l'aide d'une pipette, créer l'anaérobiose dans les tests soulignés et remplir tube/cupule dans les tests cadrés.
- incuber à 37°C pendant 24h.



Figure9 : Plaque API 20E

Résultat et discussion



I .Analyse physico-chimique du « j'ben » :

Les valeurs du pH, de l'acidité,de l'humidité et de l'extrait sec des quatre échantillons de « jben » sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 08 : Résultats des analyses physico-chimiques des quatre échantillons de «jben»

échantillons	PH	Acidité titrable °D	Extrait Sec total %	Humidité %
E1	6 ,3	56	46 ,87	53,127
E2	5,8	27,66	48,73	51,266
E3	6,63	30	49,91	59,089
E4	5,96	38	51,04	49,289

Le pH des quatre échantillons est compris entre 5,8 et 6,63.Ces valeurs sont proches de celles de **Belyagoubi** et **Abdelouahid (2013)**pourdes jbenfabriqué dans la région de Mecheria, alors qu'elles sont supérieure à des pH trouvés par **Rhiat, et al (2011)** pour le « jben » marocain.

Les valeurs de pH diffèrent d'un produit à l'autre, même si parfois, ils sont de la même région,ceci pour plusieurs causes comme :la méthode et la période de préparation du jben, le type de lait utilisé, oualors le type d'alimentation donnée aux animaux (**Ouadghiri., 2009**).

La mesure de l'acidité en degrés Dornic a donné des valeurs variableset comprise entre 27,66D° et 56D°, l'échantillon E1a une acidité beaucoup plus élevée que les autreséchantillons

Les taux d'extrait sec total (E.S.T.) des quatre échantillons de « jben» variententre 46 ,87% et 51,04%,L'échantillon E4 possède le taux le plus élevé.

II. Analyses microbiologiques :

II.1- Recherche et dénombrement des bactéries mésophiles :

II.1.1-La flore mésophile totale :

Les valeurs trouvées après dénombrement de la flore mésophile totale des quatre échantillons sont mentionné dans la figure suivante.

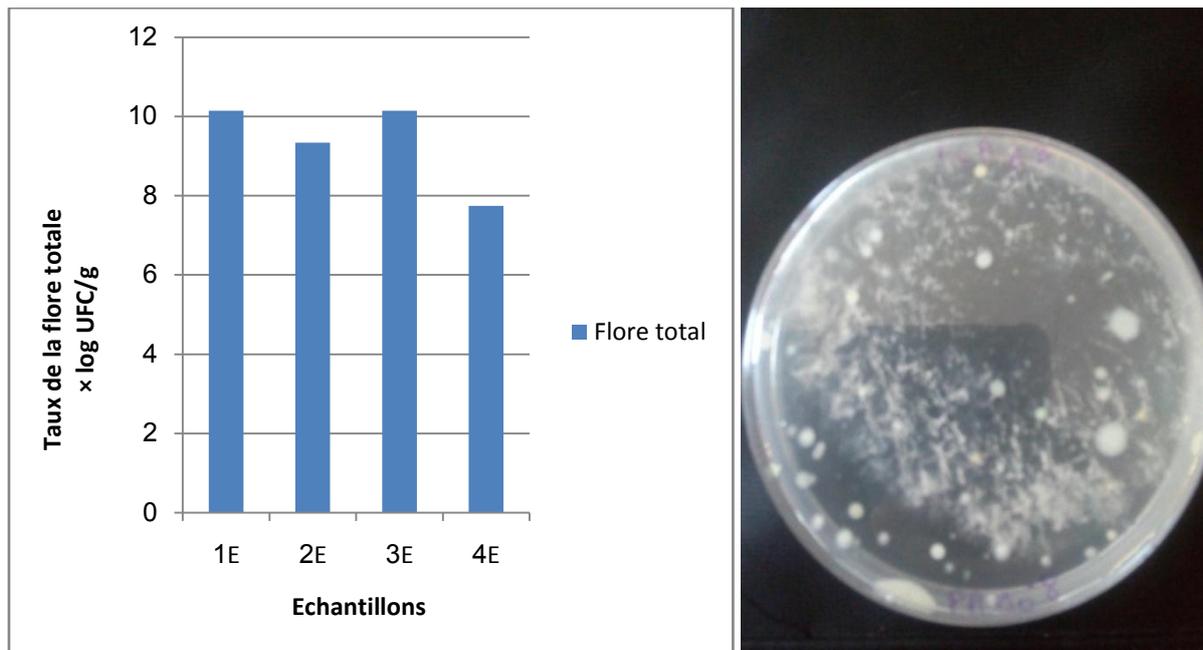


Figure 10 :Taux de flore mésophile totale sur milieu PCA à 30°C.

La flore aérobie mésophile totale des quatre échantillons de « jben » cultivée sur le milieu PCA a révélé une valeur moyenne de 75×10^8 UFC/g. Ces valeurs sont inférieures à celles de **Belyagoubi et Abdelouahid (2013)** pour des jben de la région de Ain Sefra et **Rhiat et al (2011)**, et **Mennane et al, (2007)** pour des jben marocain

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

II.1.2-Coliformes:

La recherche et le dénombrement des coliformes sont réalisés sur milieux BLBVB, suivant la méthode du NPP en utilisant la table de Mac Crady. Les résultats sont mentionnés dans la figure suivante :

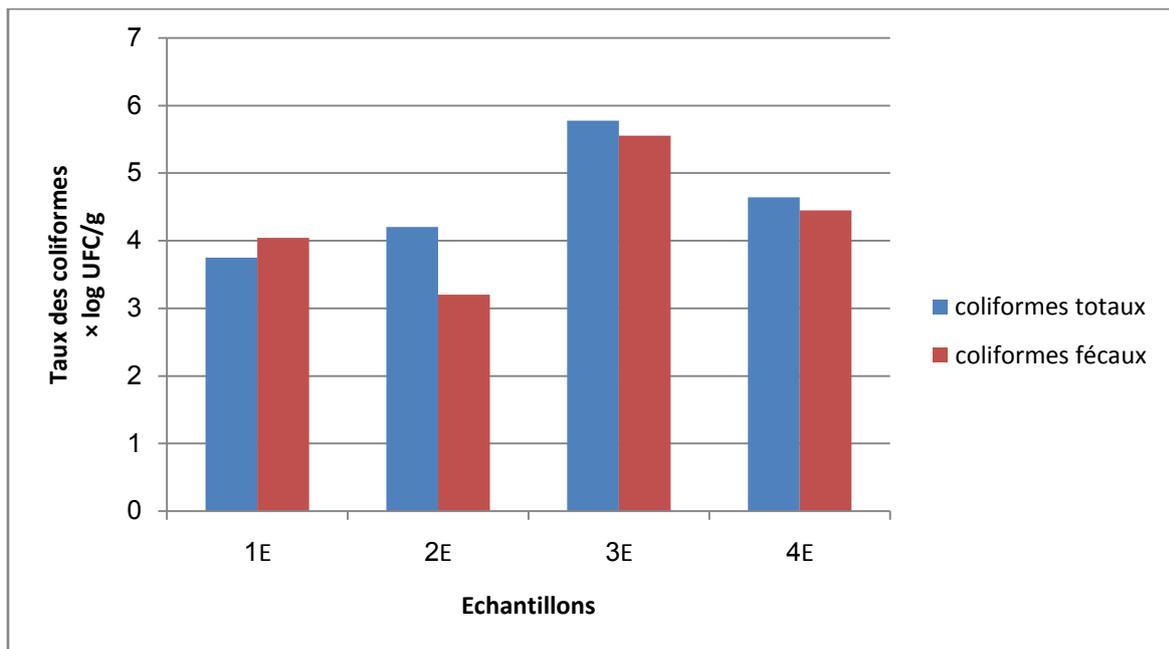
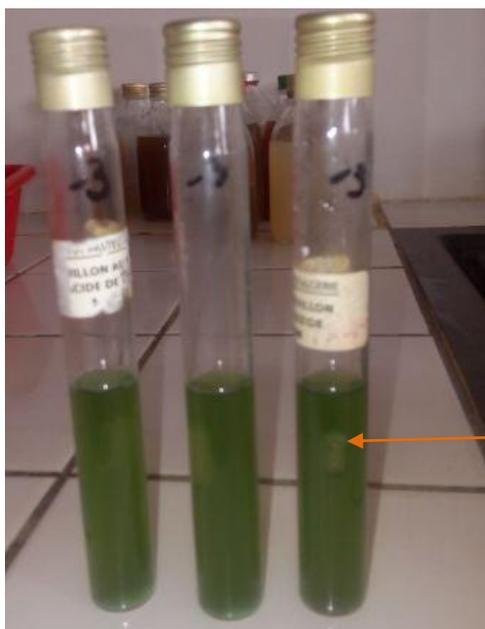


Figure 11:Taux de coliforme totaux et coliforme fécaux



Production des gaz
capté dans la cloche de
Durham de Durham.

Figure 12 :présence coliformes sur milieu BLBVB

Les coliformes sont présents dans tous les échantillons, mais le taux des coliformes totaux est plus important que fécaux

Si on compare nos résultats avec ceux des jben Marocain décrit par **Rhiat., et al (2011)** nos valeurs sont supérieure .

La présence dans le « jben » des coliformes, témoigne le manque d'hygiène au niveau de l'environnement des animaux, pendant la traite et au cours du stockage et de la conservation du lait (Magnusson et al, 2007).

La présence des coliformes fécaux indique une forte contamination fécale d'origine animale ou humaine (Benkerroum et al, 2004).

II.1.3- Les Streptocoques :

Les valeurs trouvées des Streptocoques fécaux dans les quatre échantillons, sont mentionnés dans la figure suivante :

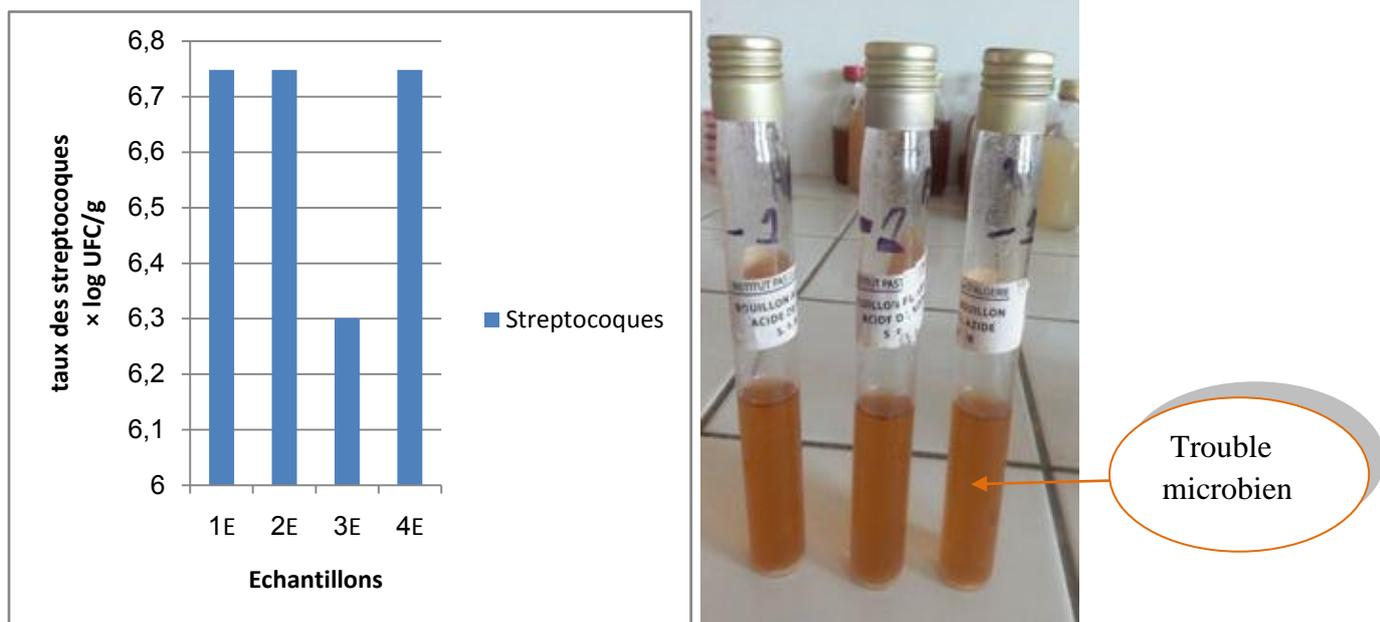


Figure 13 : Taux de Streptocoques fécaux trouvés sur milieu Rothe.

Les streptocoques fécaux sont fréquents dans les quatre échantillons de « jben » avec un taux élevé et identiques dans E1, E2 et E4 par rapport à E1 ($0,2 \times 10^7$ UFC/g). Le jben marocain analysé par Hamama (1989) contient aussi des germes de contamination fécale de l'ordre 10^4 jusqu'à 10^6 . La présence de ces bactéries dans le fromage frais a une signification hygiénique très importante. La contamination du fromage frais par ces germes peut aussi avoir lieu au cours de sa préparation particulièrement à partir des manipulateurs ou de la vaisselle lactière préalablement contaminée ceci prouve le manque d'hygiène pendant sa préparation (Hamama, 1989).

II.1.4- Bacillus :

La figure suivante montre le taux de Bacillus trouvée sur milieu GN pour les quatre échantillons :

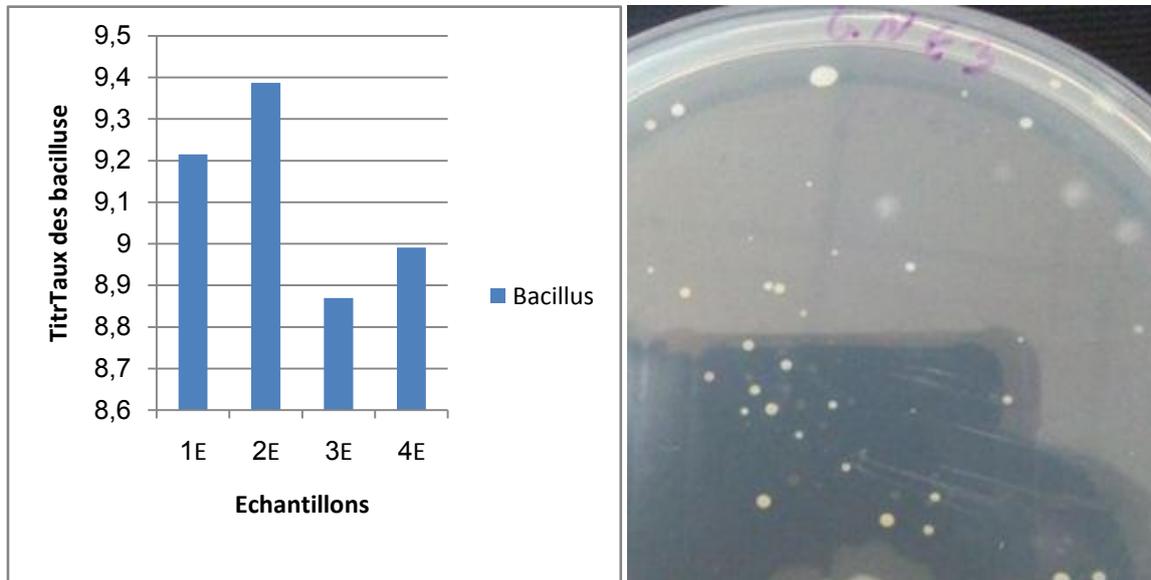


Figure 14: Taux de Bacillus trouvé sur milieu GN.

Le genre Bacillus existe dans tous les échantillons étudiés mais il est très fréquent surtout dans l'échantillon 2, alors que son taux est plus faible dans l'échantillon 3.

Par rapport aux travaux de *Toukoba, A(2016)* pour des « jben » de la région de Ain sefra nos résultats sont élevés. Ceci est du probable mentaux méthodes de préparation du produit laitier qui différent. Aussi il y'a d'autres facteurs tel que le climat (chaud/froid) et la période de prélèvement en hiver ou en été, qui ont un fort effet sur le développement des bactéries.

II.1.5-Levures et moisissures :

Les valeurs trouvées des levures et moisissures à la surface de la gélose Sabouraud, sont représentées dans la figure suivante :

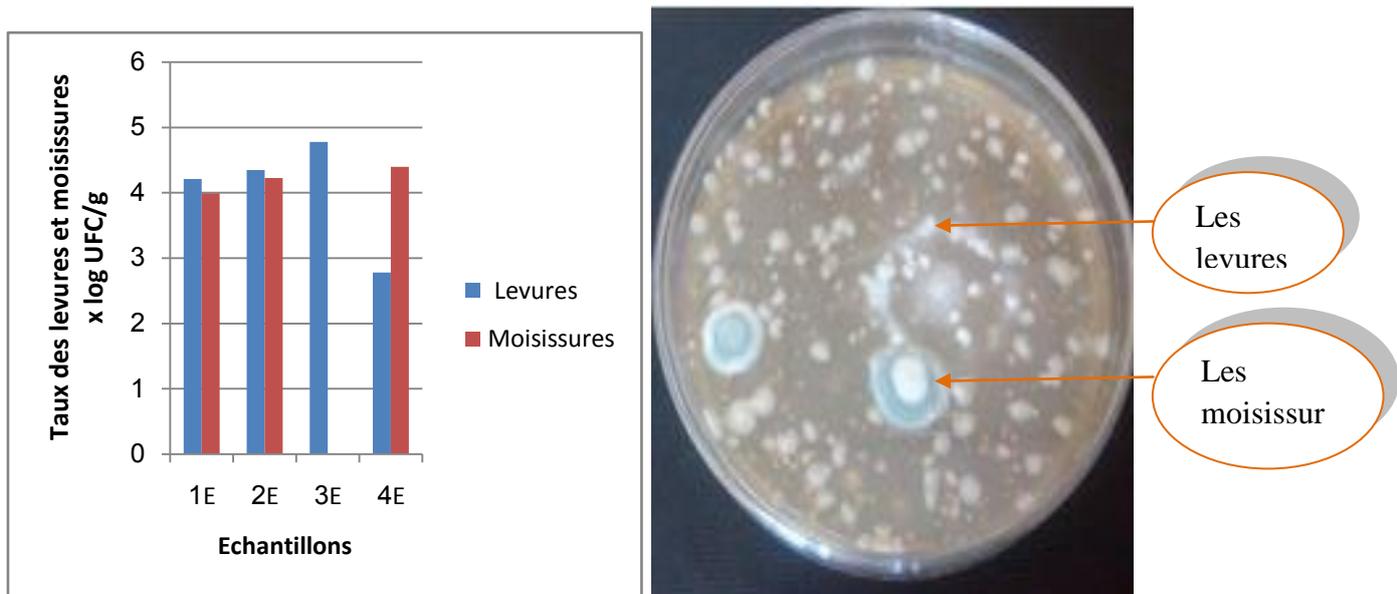


Figure 15: Taux levures et moisissures sur milieu sabouraud.

Dans E 3 le taux des levures est le plus important alors que les moisissures sont absents, Dans les échantillons E1 et E2 nous remarquons une charge élevée des levures par rapport aux moisissures, contrairement à l'E4. Nos résultats sont proche à ceux de **Rhiat et al.,(2011)**

II.1.6-Entérobactérie :

Les Entérobactéries dénombrés dans le milieu Mac Conkey sont représentés dans la figure ci-dessous :

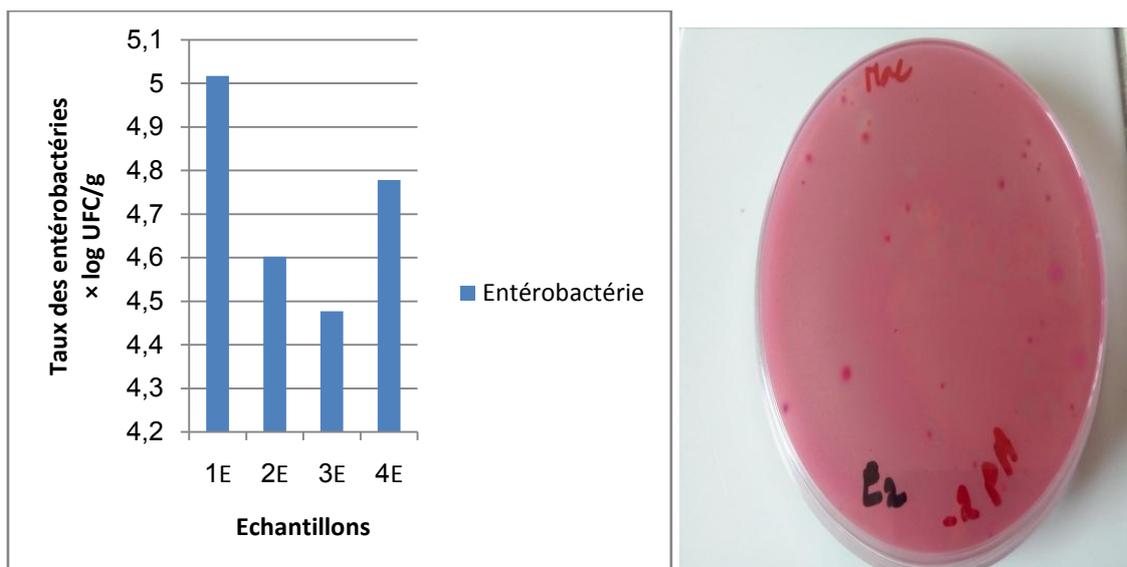


Figure16: Taux des Entérobactéries retrouvé dans milieu Mac Conkey.

Les Entérobactéries sont présentes dans les quatre échantillons, avec un taux très important surtout dans E1. Le jben 3 possède la plus faible valeur.

II.1.7-Staphylocoques :

Les Staphylocoques recherchés et dénombrés sur gélose Chapman sont mentionnée dans la figure suivante :

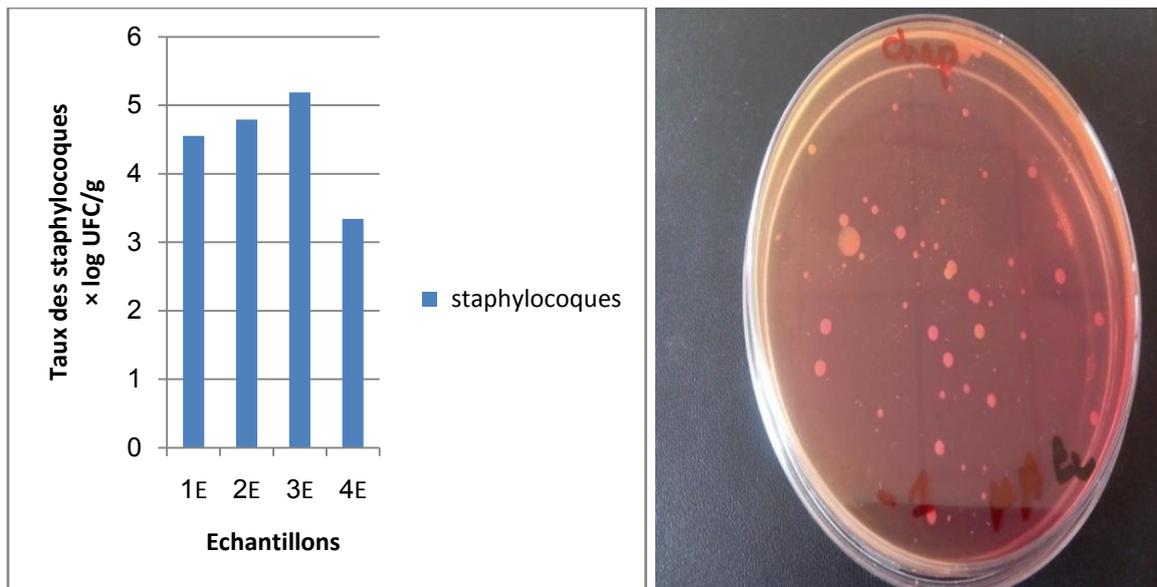


Figure 17: Taux des Staphylocoques retrouvés dans les quatre échantillons de « Jben ».

Les staphylocoques existent dans les quatre « jben » analysés. L'échantillon E3 possède le taux le plus élevée et E4 le plus faible, ceci concorde avec les résultats de **Hamama(1989)** qui ont montré la présence des staphylocoques dans trois échantillon de jbenmrocaïn

Les principales sources de contamination du lait à la production sont en premier lieu la mamelle. En effet les infections mammaires à staphylocoques représentent une source de contamination. La machine à traire aussi, mal ou non lavé est une source de contamination (**Thieulon, 2005**).

L'absence des salmonelles et Clostridium Sulfito-réducteurs est notées chez tous les échantillons de jben, **Rhiat, et al (2011)** ont signalé le même résultats pour des jben au Marocain alors que les travaux de **Hamama (1989)** ont montrés l'existence de Salmonella dans trois échantillons de jben au Maroc.

II.2-Dénombrement de la flore lactique:

Nous avons utilisé trois milieux MRS, M17, MRS +vancomycine pour le dénombrement de la flore lactique :

II.2.1-Lactobacilles :

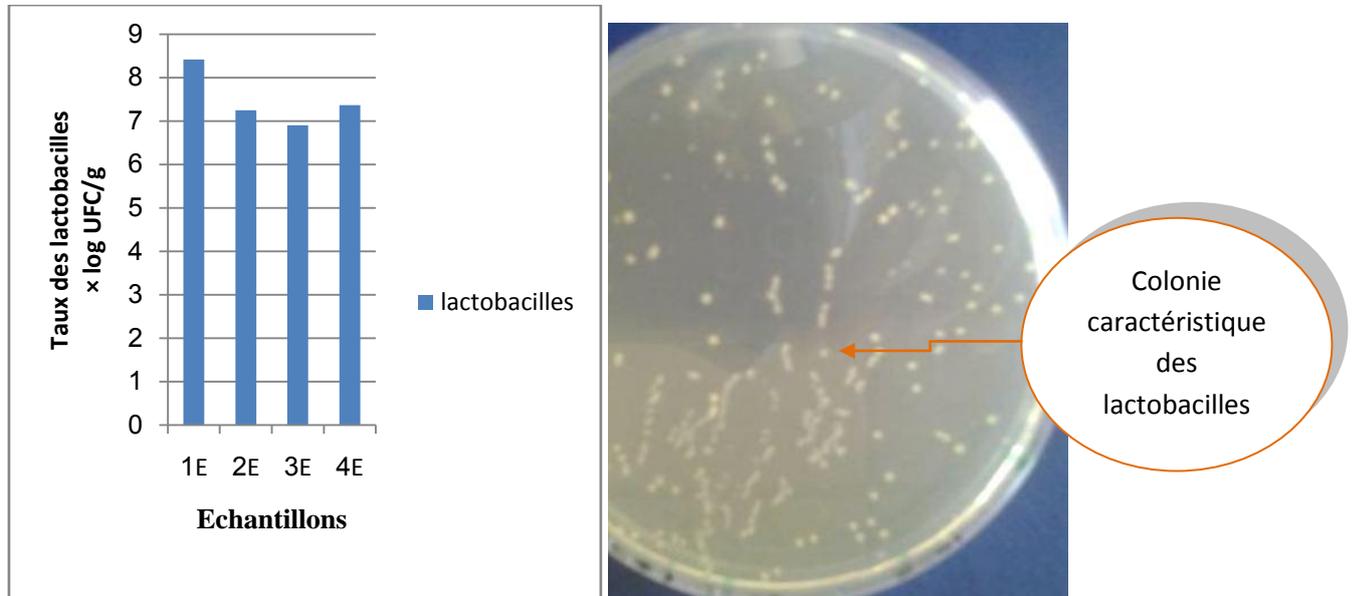


Figure18:Taux des lactobacilles sur milieu MRS.

Les lactobacilles sont présents dans les quatre échantillons avec un taux plus ou moins élevé dans E1 par rapport aux autres échantillons . Si on compare nos résultats avec le jben de Naâma , ce dernier contient des lactobacilles dans un seul échantillons étudiés(**Dahou et al,2015**)

II.2.2-Lactocoques :

La figure suivante montre le résultat de dénombrement de flore lactique dans le j'ben sur milieu M17 :

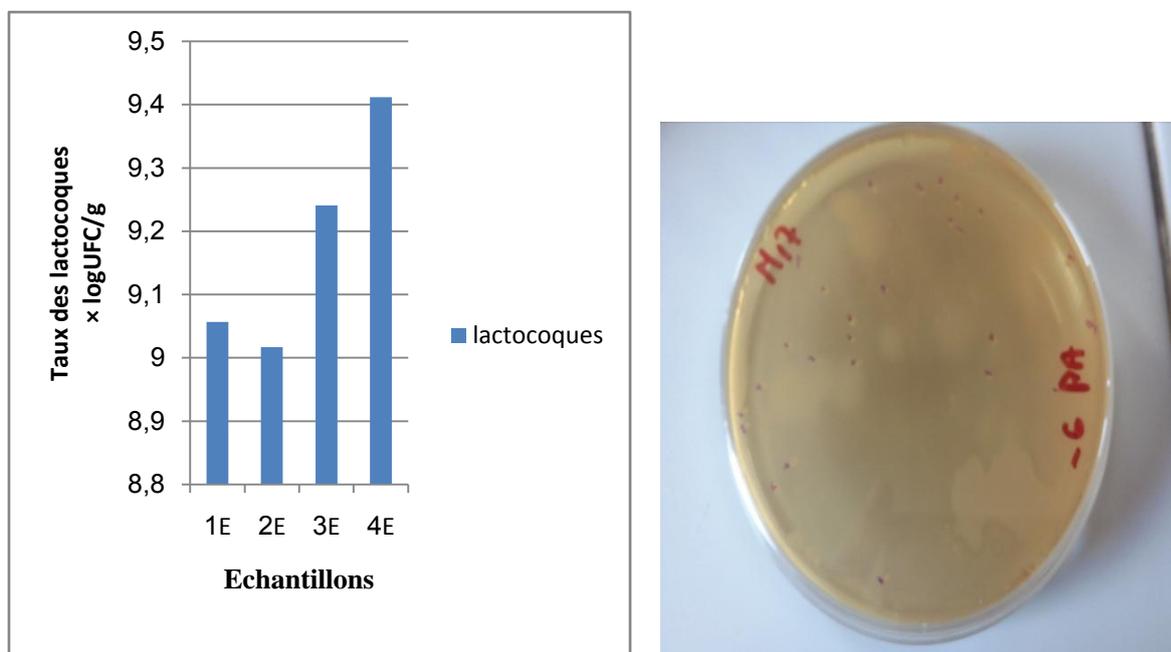


Figure 19 :Taux de Lactocoques sur milieu M17

Les Lactocoques sont présents dans les quatre échantillons dont le taux est élevé surtout au niveau de l'échantillon E 4. Si on compare nos résultats avec le jben de Naâma , ce dernier contient des lactocoques dans les trois échantillons étudiés(Dahou et al,2015)

II.2.3- Leuconostoc :

Le milieu MRS +vancomycine permet le développement des Leuconostoc, Après dénombrement le taux trouvé apparait dans la figure suivante :

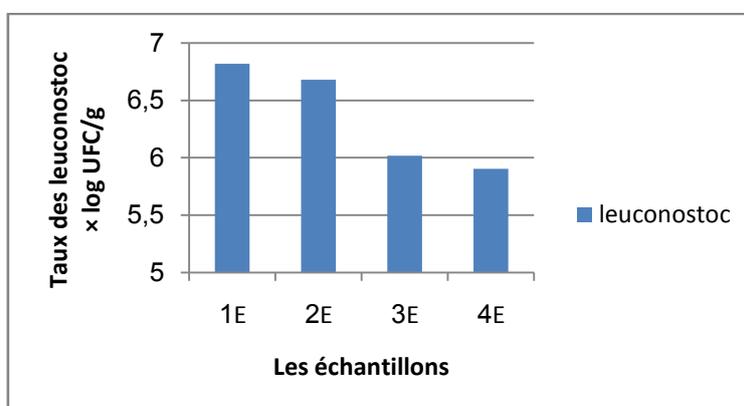


Figure 20:Taux des leuconostocs sur milieu MRS+V.

Les Leuconostocs sont présents dans tous les échantillons. L'échantillon 1 possède la charge la plus élevée. Dans E4 cette charge est beaucoup plus faible. Le jben de Naâma étudié par **Dahou et al., 2015** contient des leuconostoc dans un seul échantillon

Les bactéries lactiques sont présentes dans tous les échantillons de « Jben » ceci est en accord avec les résultats de **Ouadghiri (2009)** pour des « Jben » du Maroc. Les valeurs trouvées restent plus élevées par rapport aux résultats mentionnés par **Mennaneet al., (2007)** et ceux de **Belyagoubi et Abdelouahid (2013)** pour des « jben » Algérien

D'après les travaux de **Bekhouché et Boulahrouf (2005)**, la charge lactique varie entre 0.579×10^7 et 11.40×10^7 UFC/ml.

III. Identification des Entérobactéries et Staphylocoques :

III.1 - Utilisation des plaques API 20E et API Staph :

La contamination du « jben » par les Staphylocoques et des Entérobactéries nous conduit à rechercher le genre et l'espèce qui peut être pathogène ou non

Après 24 h d'incubation à 37°, nous avons mis des réactifs dans certaines cupules. Le virage et le changement ou non de couleurs dans la plaque nous a donné les résultats suivants :

Le tableau suivant résume les caractéristiques morphologiques de ces bactéries et les résultats des plaques API 20 E et plaques API Staph.



Figure 21 : Résultats des galeries API Staph



Figure 22 : Résultats des galeries API 20E.

Tableau 09 : Identification des bactéries contaminant.

Souches	Tests biochimique		Tests morphologiques		Souche identifiée par plaque API
	Oxydase	Catalase	Gram	Forme	
PAC1E2	-	+/-	G-	Bacille en chaine	<i>Esherichia coli</i>
PAC2E3	-	-	G-	Bacille en chaine	<i>Esherichia coli</i>
PAC1E3	-	+/-	G-	Bacille en chaine	<i>Esherichia coli</i>
PAC1E4	-	-	G-	Bacille en chaine	<i>Esherichia coli</i>
PAC2E4	-	-	G-	Bacille en chaine	<i>Esherichia coli</i>
PAC2E3	+	+	G+	Cocci en grappe de raisin	<i>Staphylococcushominis</i>
PAC2E4	+	+	G+	Cocci en grappe de raisin	<i>Staphylococcussciniri</i>
PAC1E4	+	+	G+	Cocci en grappe de raisin	<i>Staphylococcussaprophyticus</i>
PAC1E2	+	+	G+	Cocci en grappe de raisin	<i>Staphylococcus sciniri</i>

+ : positif ; - : négatif.

D'après l'utilisation des tests d'identifications morphologiques et biochimiques classiques et de la Galerie API 20 E, API Staph nos souches bactériennes isolées à partir du produit laitier « Jben » peuvent être apparentées probablement au genre :*Esherichia coli*, Pour les entérobactéries .

Parmi les *Staphylococcus* trois souches identifiées Sont :*S .hominis*, *S .sciniri*, *S .saprophyticus*

Conclusion

Les analyses physico-chimiques des quatre échantillons de « jben » de la région de Ain Sefra montrent des résultats variables qui diffèrent en fonction de plusieurs facteurs (la période de préparation, l'alimentation des animaux ect...). Les analyses microbiologiques montrent qu'il est riche en flore lactique mais, altéré par des Coliformes totaux et Féciaux, des Streptocoques, des Champignons, et des Bacillus. Il contient aussi des espèces pathogènes appartenant aux Entérobactéries et des Staphylocoque dont l'identification phénotypique par les plaques API20E et APIstaph a révélé la présence d'*E.coli* et de trois espèces différentes de Staphylocoques, ceci prouve que soit le lait utilisé pour la fabrication du jben est contaminé au niveau des fermes (écuries et étable non lavé, animaux malades, machine à traire non nettoyé ect...) ou alors pendant la fabrication du produit, les règles d'hygiène ne sont pas respectées.

On peut dire alors que notre produit est classé parmi le produit à risque pour la consommation à cause de sa qualité hygiénique non satisfaisante.

Ainsi nous recommandons l'arrêt de commercialisation de ce produit jusqu'à l'amélioration des procédés de fabrication en appliquant des mesures d'hygiène draconiennes

Ce travail peut être suivi selon les perspectives suivantes ;

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

Références bibliographique

- **Abdelaziz S. et Ait Kaci F., 1992.** Contribution à l'étude physico-chimique et microbiologique d'un fromage traditionnel algérien fabriqué à partir du lait de chèvre le "Djben". Mémoire d'ingénieur d'état en agronomie. Institut national agronomique d'El Harrach, Alger. 67 p.
- **Abd-El-Malek, Y. (1978).** Traditional Egyptian dairy fermentations. *Global Impacts of Applied Microbiology*, 5, 198-208.
- **Achezegag F.Z et Zerarka F et Merided Fatima.(2008)** .Analyse microbiologique des produits laitiers (Le yaourt) .Mémoire en vue de l'obtention du diplôme d'études supérieures en biologie. Université d'Ouargla, pp48.
- **Afnor, E. (1986).** Méthodes d'essai. Recueil des normes françaises.
- **Aissaoui zitoun O. (2003).** Fabrication et caractéristique d'un fromage traditionnel algérien bouhezza .Thèse de magisters. INATAA. Constantine. Algérie, p138.
- **Aissaoui zitoun O. (2004).** Fabrication et caractérisation d'un fromage traditionnelle algérien « Bouhezza ». Mémoire de Magister. Université Mentouri de Constantine.
- **Aissaoui Zitoun O. Et zidoune M.N., 2006.** Le fromage traditionnel algérien Bouhezza. Séminaire d'Animation Régional Technologies douces et procédés de séparation. AUF-GP3A-INSAT, Tunis, Tunisie, 118-124.
- **Alais C. 1984.** Science de lait : principes des techniques laitières. 4ème édition, SEPAIC, Paris, 814 p.
- **Amhour, F., Saidi, B., Hamama, A., & Zahar, M. (2010).** Qualité microbiologique du lait cru: Cas de la région d'Errachidia. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 18(1), 31-35.
- **Amiot, J., Fournier, S., Lebeuf, Y., Paquin, P., & Simpson, R., (2002).** Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse

du lait. *Science et technologie du lait: Transformation du lait*. Presses international Polytechnique, Montréal.

- **Bekhouche, F., & Boulahrouf, A., (2005).** Etudes quantitative et qualitative des bacteries lactiques de lait cru produits par des vaches locales appartenant a six stations d'élevage de constantine. *Sciences & Technologie C*, (23), 38-45
- **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.
- **Bencharif, A., (2001).** Stratégies des acteurs de la filière lait en Algérie: états des lieux et problématiques. *Options Méditerranéennes Série B. Etudes et Recherches* 32: 25-45.
- **Bendimerad N., (2013).** Caractérisation phénotypique technologique et moléculaire D'isolats de bactéries lactiques de laits crus recueillis dans les régions de l'Ouest Algérien. Essai de fabrication de fromage frais type «Jben». Thèse de Doctorat, Université de Tlemcen. Algérie. P05.
- **Benkerroum, N., Mekkaoui, M., Bennani, N., & Hidane, K., (2004).** Antimicrobial activity of camel's milk against pathogenic strains of Escherichia coli and Listeria monocytogenes. *International journal of dairy technology*, 57(1), 39-43.
- **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.
- **Bousnane M et Djadi O., (2009).** Caractérisation d'un fromage traditionnel algérien "Takammèrite" de la région de Ghardaïa. Mémoire Ing. I.N.A.T.A.A. Constantine, 108p.
- **Broome, M. C., & Hickey, M. W., (1990).** Comparison of fermentation produced chymosin and calf rennet in Cheddar cheese. *Australian Journal of Dairy Technology*, 45(2), 53-59.

- **Cniel., (2006).** Produit laitier. Maison de lait.
- **Cogitore, A., (1982).** Traité pratique de réglementation laitière, laits et produits laitiers
- **Dahou, A., Homrani, A., Bensaleh, F., & Medjahed, M., (2015).** La microflore lactique d'un fromage traditionnel Algérien «type j'ben»: connaissance des écosystèmes microbiens laitiers locaux et de leurs rôles dans la fabrication des fromages. *Afrique SCIENCE*, 11(6), 1-13.
- **Dillon, J.C., (2008).** Place du lait dans l'alimentation humaine en région chaude. Edition A. P.G (Agro Paris Tech). (Antoine Cogitore). d'animation régional. "Technologies douces et procédés de séparation au service de la « takammerite » de la région de Ghardaïa. Mémoire d'ingénieur d'état en industrie.
- **F.A.O, (1998).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Rome (Italie): Alimentation et nutrition. ISBN, (28), 92-5-20534-6.
- **Guiraud, J. P., (1998).** Microbiologie alimentaire, microbiologie des principaux produits laitiers. *Edition DUNOD, Paris, 65.*
- **Hamama, A., (1989).** Qualité bactériologique des fromages frais marocains. *Options Méditerranéennes-Série Séminaires*, (6), 223-227.
- **Harboe, M., Broe, M. L., & Qvist, K. B., (2010).** The production, action and application of rennet and coagulants. *Technology of cheesemaking*, 2.
- **Harrouz et Oulad hadj youcef., (2007).** la filière lait ; vers une nouvelle dimension de développement dans la vallée du M Zab et Metlili .Mémoire Ing .ITAS Ouargla, p108.
- **Hebboul, F.Z., Mazouzi, H., Soltani, S., (2005).** Etude comparative de la qualité alimentaire entre trois types de lait frais : bovin, caprin, camelin. Mémoire d'ingénieur, Département de Biologie, Université de Laghouat. pp71.

- **Larpent J.P., 1997.** Microbiologie alimentaire, techniques de laboratoire. Edition TEC et DOC, Lavoisier, Paris, 1073P.
 - **Lebres, E., Azizi, D., Hamza, A., Taleb, F., & Taouchichet, B., (2002).** Manuel des travaux pratiques. *Institut Pasteur d'Algérie, 20p.*
 - **Leveau, J. Y., & Bouix, M., (1993).** Microbiologie industrielle: les micro-organismes d'interet industriel.
 - **Lemouchi, L., (2008).** Le fromage traditionnel bouhezza : enquête dans la wilaya de Tébessa et suivie de l'évolution des caractéristiques physico-chimiques de deux fabrications. Mémoire d'ingénieur, INATAA, Constantine, Algérie, 65 p.
 - **Lhsaouis., (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.
 - **Licitra, G., (2010).** Worldwide traditional cheeses: Banned for business?. *Dairy science & technology, 90(4), 357-374.*
- Luquet, F. M., Corrieu, G., & Marteau, P., (2006).** Bactéries lactiques et probiotiques. *Acta Endoscopica, 36(3), 376-376.*
- **Magnusson, M., Christiansson, A., & Svensson, B., (2007).** Bacillus cereus spores during housing of dairy cows: factors affecting contamination of raw milk. *Journal of dairy science, 90(6), 2745-2754.*
 - **Mahamedi, A., (2015).** Etude des qualités hygiéniques, physico-chimique et Microbiologiques des ferments et des beurres traditionnelles destinés à la communication dans différentes régions d'Algérie. Thèse de Doctorat, Université Oran. Algérie. P 16.

- **Marchal, N., Bourdon, J. L., & Richard, C., (1982).** Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries.
- **Mathieu, J., (1998).** *Initiation à la physicochimie du lait.* Lavoisier Tec & Doc
- **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.
- **Mekentichi, Z., (2003).** Qualité physicochimique et bactériologique d'un fromage traditionnel (Bouhezza).mémoired'ingénieur. Dept Agronomie. Université de Batna.
- **Mennane, Z., Khedid, K., Zinedine, A., Lagzouli, M., Ouhssine, M., &Elyachioui, M. (2007).** Microbial Characteristics of Klila and JbenTraditionnal Moroccan Cheese from Raw Cow's Milk. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, 2(1), 23-27.
- **Noor-Develiet P.E., Gist-Brocades N.N. Et Delft N.C.D., (1983).** Les Enzymes Alimentaires : Utilisation et Innocuité. *Microbiol. Alim. Nut.*, 1 : 15.
- **Nouani, A., Belhamiche, N., Slamani, R., Belbraouet, S., Fazouane, F., &Bellal, M. M., (2009).** Extracellular protease from *Mucorpusillus*: purification and characterization. *International Journal of Dairy Technology*, 62(1), 112-117.
- **Ouadghiri, M., (2009).** Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés «Lben» et «Jben» d'origine marocaine
- **Owusu-Kwarteng, J., Akabanda, F., Nielsen, D. S., Tano-Debrah, K., Glover, R. L., & Jespersen, L., (2012).** Identification of lactic acid bacteria isolated during traditional fura processing in Ghana. *Food microbiology*, 32(1), 72-78.

- **Pougheon S. et Goursaud J., (2001).** « Le lait et ses constituants caractéristiques physicochimiques», In : DEBRY, G. Lait, nutrition et santé, Tec & Doc, Paris, 342 p.
- **Poznanski, E. L. I. S. A., Cavazza, A. G. O. S. T. I. N. O., Cappa, F., & Cocconcelli, P. S., (2004).** Indigenous raw milk microbiota influences the bacterial development in traditional cheese from an alpine natural park. *International journal of food microbiology*, 92(2), 141-151.
- **Prescott, L. M., Harley, J. P. & Klein, D. A., (2003).** Microbiologie, *de Boeck* 2e édition française, 41-73.
- **Quasem, J. M., Mazahreh, A. S., & Abu-Alruz, K., (2009).** Development of vegetable based milk from decorticated sesame (*Sesamum indicum*). *American Journal of Applied Sciences*, 6(5), 888.
- **Ramet, J.P., (1997),** Les agents de transformation du lait; la présure et les enzymes coagulantes In: Le fromage. Ed., A. Eck, 3ème ed., Technique et documentation Lavoisier, p.101-107, 539p.
- **Rhiat, M., Labioui, H., Driouich, A., Aouane, M., Chbab, Y., Mennane, Z., & Ouhssine, M., (2011).** Étude bactériologique comparative des fromages frais marocains commercialisés (Mahlabats) et des fromages fabriqués au laboratoire. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 7(3).
- **Richard V.J., (1990).** Production de lait cru de bonne qualité bactériologique. *Microb-Hyg-alim* 2 (1) : 33p.
- **Rosset, R., (2001).** Croissance microbienne et froid. Etude du cas particulier de *Listeria monocytogenes*. *Bulletin de l'Académie nationale de médecine*, 185(2), 287-300.

- **Sakili D; Issoual D., (2003).** Lactic acid bacteria in processing maroccansmen. copyrightacademic d'agriculture de France. Université Moulay Ismail, Faculté des Sciences et Techniques, Département de Biologie Errachidia, Maroc.
- **Salmeron, J., De Vega, C., Perez-Elortondo, F. J., Albisu, M., & Barron, L. J. R.,(2002).**Effect of pasteurization and seasonal variations in the microflora of ewe's milk for cheese making. *Food microbiology*, 19(2-3), 167-174
- **Samet-Bali, O., Ayadi, M. A., &Attia, H., (2009).** Traditional Tunisian butter: Physicochemical and microbial characteristics and storage stability of the oil fraction. *LWT- Food Science and Technology*, 42(4), 899-905.
- **Sutherland, J. P., &Varnan, A. H., (2001).** Milk and Milk Product. *Technology, Chemistry and Microbiology*. Aspen Publication, Gaithersburg, Maryland, 387-429.
- **Talantikite-Kellil, S., (2015).***Purification et caractérisation d'une enzyme coagulante d'origine microbienne pour application en fromagerie* (Doctoral dissertation).p27.
- **Thieulon M., (2005).** Lait pathogènes staphylocoques. Revue de la chambre D'agriculture du Cantal. pp1-2.
- **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.
- **Toukobahelem.,(2016),** Etude physicochimique, microbiologique du jben traditionnel de la region d'ainsefra fabrique par el haka. : Mémoire de master.

- **Vignola, C. L., MICHEL, J., & PAQUIN, P., (2002).** Science et technologie du lait: transformation du lait. *Ed Lvoisier, Paris.*
- **Vilain, A. C., (2010).** Qu'est-ce que le lait?.*Revue française d'allergologie, 50(3), 124-127.*
- **Wigley, R. C. (1996).** Cheese and whey in industrial enzymology. *Godfrey and Wiest, 2, 135-142.*
- **www.blogs-afrique.info.**

Annexes

Annexe 1

Résultats des analyses microbiologiques :

	E1	E2	E3	E4
coliformes totaux	$0,056 \times 10^5$	$0,16 \times 10^5$	6×10^5	$0,44 \times 10^5$
coliformes fécaux	$0,011 \times 10^5$	$0,016 \times 10^5$	$3,6 \times 10^5$	$0,28 \times 10^5$
Streptocoques fécaux	$0,56 \times 10^4$	$0,56 \times 10^7$	$0,2 \times 10^7$	$0,56 \times 10^7$
Levures	$0,98 \times 10^4$	$1,68 \times 10^4$	00	$2,5 \times 10^4$
moisissure	$1,62 \times 10^4$	$0,24 \times 10^4$	$0,6 \times 10^4$	$0,06 \times 10^4$
Staphylocoques	$0,36 \times 10^5$	$0,62 \times 10^5$	$1,54 \times 10^5$	$0,022 \times 10^5$
Flore total	$1,4 \times 10^{10}$	$0,22 \times 10^{10}$	$1,4 \times 10^{10}$	$0,0056 \times 10^{10}$
Clostridium	0	0	0	0
salmonelles	0	0	0	0
Bacillus	$1,64 \times 10^9$	$2,440 \times 10^9$	$0,740 \times 10^9$	$0,98 \times 10^9$
Enterobacterie	$1,04 \times 10^5$	$0,4 \times 10^5$	$0,3 \times 10^5$	$0,6 \times 10^5$
Lactobacille	$2,64 \times 10^8$	$0,178 \times 10^8$	$0,0808 \times 10^8$	$0,232 \times 10^8$
Leuconostoc	$6,60 \times 10^6$	$4,80 \times 10^6$	$1,040 \times 10^6$	$0,8 \times 10^6$
Lactocoque	$1,14 \times 10^9$	$1,040 \times 10^9$	$1,74 \times 10^9$	$2,58 \times 10^9$

Annexe 2

Composition des diluants (g/l)

-Eau peptoné :

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

-Eau peptonéétamponée :

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

- Eau physiologie 9 /ml NaCl

NaCl	9g
Eau distillée	1000 ml

-Citrate de sodium (2%) :

Citrate de sodium.....	2g
Eau distillée.....	100ml

Composition des milieux de cultures (g/l)

I. Géloses :

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

Hydrolysats trypsique de caséine	2,5g
Extrait de viande	5g
Glucose	1g
Extrait de la levure	2,5g
Agar	15g
Eau distillé q.s.p	1000 ml
pH=7±0.2 à 37°C	

- **Gélose nutritive :**

Peptone	5g
Extrait de viande	1g
Extrait de levure	2g
Chlorure de sodium.....	5g
Agar	15g
Eau distillée q.s.p.	1000 ml

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

Extrait de levure.....	2,5g
Extrait de viande	5g
Tryptone.....	5g
Peptone papainique.....	2,5g
Peptone pepsique de viande	5g
Acide ascorbique	0,5g
Lactose	5g
Glycérophosphate de sodium	19g
Mg SO4.....	0,25g
Agar-agar	15g (uniquement gélose)
Eau distillée q.s.p.	1000 ml

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

Extrait de viande	10g
Extrait de levure	5g
Peptone	10g
Acétate de sodium	5g
Citrate de sodium.....	2g
Glucose	20g
MgSO4.....	25g
MnSO4	0,05g
KH2PO4	2g
Agar-agar	15 g (uniquement gélose)
Tween 80.....	1 ml
Eau distillée q.s.p.....	1000 ml

• **Mac conkey**

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

pH 7,1

Autoclaver à 110 °C pendant 30 mn

• **CHAPMAN**

Peptone	11g
Extrait de viande	1g
Chlorure de sodium	75g
Mannitol	1g
Rouge de phénol.....	0,025g
Agar-Agar	15g
Eau distillée	1000 ml

pH 7.4 à 7.5

Autoclaver à 110 °C pendant 30 mn.

- **Viande – Foie (VF)**

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

pH 7,2

Autoclaver à 115 °C pendant 30 mn

- **SS (Salmonella, Shigella)**

Extrait de viande de boeuf.....	5g
Polypeptone.....	5g
Lactose.....	10g
Sels biliaires	8,5g
Citrate de sodium	10g

Thiosulfate de sodium..... 8,5g

Citrate ferrique	1g
Rouge neutre.....	0,025g
Vert brillant	(qlqs traces)
Eau distillée.....	1000 ml

pH 7,0

Ne pas autoclaver, porter à ébullition pendant 1 ou 2mn en agitant fréquemment

- **Sabouraud :**

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

pH5.6

II. Bouillons

- **Bouillon BLBVB (Bouillon lactosé bilié au vert brillant) (Dunham et Schoenlein,1926)**

Lactose.....	10g
Peptone.....	10g
Bile déshydratée	20g
Vert brillant à 1%.....	1,3g
Eau distillée.....	1000 ml

pH 7,2

Autoclaver à 115 °C pendant 20 mn

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

Tryptone	20g
Glucose	5g
Chlorure de sodium.....	5g

Phosphate di potassique2.7g
 Phosphate monopotassique.....2,7g
 Azohydrate de sodium..... 0,2g
 Eau distillée1000 ml
 pH 7,2
 Autoclaver à 121 °C pendant 20 mn

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

Tryptone..... 20g
 Glucose5g
 Chlorure de sodium5g
 Phosphate di potassique5g
 Phosphate monopotassique..... 2,7g
 Azohydrate de sodium0,3g
 Eau distillée1000 ml
 Solution à 0,01 g d'éthyle Violet dans 100 ml d'H₂O 5 ml
 pH 7,2
 Autoclaver r à 121 °C pendant 20 mn

- **Bouillon au sélinite (SFB)**

Sélinite de sodium..... 5g
 Peptone trypsine de caseine.....4g
 Lactose..... 4g
 Phosphate disodique.....40g
 Cystine0.02g
 Eau distillée 1000 ml
 pH 7,0 ± 0.2
 Stériliser à 115 °C pendant 20 mn

- **Eau peptonée exempte d'indole :**

Peptone..... 20g
 Chlorure de sodium20g
 Phosphate dissodique9g
 Eau distillée..... 1000 ml
 pH 7,5
 Autoclaver à 121 °C pendant 20 mn

- **Medium API 50 CH :**

Ammonium sulfate.....2g
 Extrait de levure.....0,5 g
 Tryptone.....1g
 Disodium phosphate3,22g
 Monopotassiumphosphateà.....0,12g
 Traces éléments.....10ml
 Rouge de phénol0,17g
 Eau distillé1000ml

La composition des colorants de Gram

- **Violet de gentiane au cristal :**

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

Lugol :

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

- **Fuchsine de Ziehl :**

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

Annexe 3

- **Recherche du NPP (Nombre le plus probable)**

1-Technique

Trois dilutions du produit sont préparées. Chaque dilution estensemencée dans trois tubes de BLBVB (bouillon lactosé bilié au vert brillant) (composition en annexe IV) avec cloche de Durham, à raison de 1ml par tube. Après 24 h à 48 h d'incubation à 37 °C, la présence de gaz, ainsi que le virage au jaune des tubes de BLBVB confirment la présence des coliformes dans l'échantillon. Le nombre de tubes positifs pour chaque dilution est compté, la somme correspond au nombre caractéristique. Le résultat est exprimé dans la table de Mac Credy (ci-dessous) par le nombre le plus probable (NPP) de coliformes dans un millilitre ou 1 gramme de produit.

I.2-Table de Mac Credy : (3 tubes)

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	0	1	0,7	1
1	1	0		0
1	1	1	1,1	2
1	2	0		0
1	3	0		0
2	0	0	0,9	1
2	0	1	1,4	2
2	1	0	1,5	1
2	1	1	2,0	2
2	2	0	2,1	1
2	2	1		0
2	3	0		0
3	0	0	2	1
3	0	1	4	1
3	0	2	4	0
3	1	0	7	1
3	1	1		0
3	2	0	9	1
3	2	1	15	1
3	2	2	21	2
3	2	3		0
3	3	0	20	1
3	3	1	50	1
3	3	2	110	1
3	3	3	>110	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).





017222 B

REF.: PAS₂ E₃



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

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

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

Ident. / Ταυτοποίηση :
Staphylococcus hominis

Imprimé en France / Printed in France

- Lecture de la galerie miniaturisée API staphylocoque

Tests	Composants actifs	Réactions /Enzymes	Résultats	
			Négatif	Positif
ONPG	2-nitrophényl- β D-galactopyranoside	β -galactosidase (Ortho Nitro Phényl- β D-Galactopyranosidase)	incolore	jaune
ADH	L -arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Orange /rouge
LDC	L -lysine	Lysine Décarboxylase	Jaune	Orange /rouge
ODC	L-Ornithine	Ornithine Décarboxylase	Jaune	Orange /rouge
CIT	Trisodium citrate	Utilisation du Citrate	Vert pâle - jaune	Bleu-vert-bleu
H ₂ S	Sodium thiosulfate	Production d' H ₂ S	Incolore-grisâtre	Dépôt noir-fin liseré
URE	Urée	Uréase	Jaune	Orange /rouge
TDA	L-tryptophane	Tryptophane Désaminase	TDA immédiat	
			Jaune	Marron-rougeâtre
IND	L-tryptophane	Production d'Indole	JAMES immédiat	
			Incolore-vert pâle – jaune	Rose
VP	Sodium pyruvate	Production d'acétoïne	VP1+VP2/10min	
			Incolore – rose pâle	Rose - rouge
GEL	Gélatine (origine bovine)	Hydrolyse (protéase) (Gélatine)	Pas de diffusion du pigment	Diffusion du pigment
GLU	D-glucose	Fermentation -oxydation (Glucose)	Bleu-bleu vert	Jaune-jaune gris
MAN	D-mannitol	Fermentation -oxydation (Mannitol)	Bleu-bleu vert	Jaune-jaune gris
INO	Inositol	Fermentation -oxydation (Inositol)	Bleu-bleu vert	Jaune-jaune gris
SOR	D-sorbitol	Fermentation -oxydation (Sorbitol)	Bleu-bleu vert	Jaune-jaune gris
RHA	L-rhamnose	Fermentation -oxydation (Rhamnose)	Bleu-bleu vert	Jaune-jaune gris
SAC	D-saccharose	Fermentation -oxydation (Saccharose)	Bleu-bleu vert	Jaune-jaune gris
MEL	D-melibiose	Fermentation -oxydation (Melibiose)	Bleu-bleu vert	Jaune-jaune gris
AMY	Amygdaline	Fermentation -oxydation (Amygdaline)	Bleu-bleu vert	Jaune-jaune gris
ARA	L-arabinose	Fermentation -oxydation (Arabinose)	Bleu-bleu vert	Jaune-jaune gris

- Lecture de la galerie miniaturisée API20E

Tests	substrat	Caractères recherchés	Résultats négatif	Résultats positive
0	Aucun	Témoin négatif	Rouge	
GLU	D-glucose	Témoin positif	Rouge	Jaune
FRU	D-fructose	Acidification à partir du carbohydrate		
MNE	D-manose			
MAL	Maltose			
LAC	Lactose			
TRE	D-tréhalose			
MAN	D-mannitol			
XLT	Xylitol			
MEL	D-melibiose			
NIT	Nitrate de potassium	Réduction des nitrates nitrites	Incolore/rose	Rouge
PAL	B-naphtyl ac.phosphate	Phospahtase alcaline	Jaune	Violet
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétyl méthyl-carbonyl	Incolore/rose	Violet/rose
RAF	Raffinose	Acidification à partir du carbohydrate	Rouge	jaune
XYL	Xylose			
SAC	Saccharose			
MDG	-méthyl-D gluosamine			
NAG	N-acétyl-gluocosamine			
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	jaune	Orange/rouge

Résumé

Dans toutes les régions de l'Algérie, plusieurs types de fromages sont issus des transformations du lait cru de chèvre, de vache ou de brebis par des méthodes traditionnelles. Parmi les préparations laitières traditionnelles algériennes le « Jben » est fabriqué dans plusieurs régions du pays par différentes méthodes et il est même commercialisé. Ainsi nous nous sommes intéressé à étudier ce type de fromage en commençant par des analyses physico-chimiques puis microbiologiques

Quatre échantillons de « jben » sont étudiés, ils proviennent de la localité de Ain Sefra. Ils sont préparés à partir de lait cru de vache et « Hakka » qui est une présure préparée traditionnellement pour faciliter la coagulation du lait.

Les analyses physico-chimiques montrent que notre « jben » est plus ou moins acide. Les analyses microbiologiques montrent qu'il est riche en flore lactique, il contient aussi des germes de contamination fécale tels que les coliformes fécaux, et streptocoques fécaux, il contient aussi des bactéries d'altération comme *Bacillus*, et les levures et des moisissures. Notre Jben contient aussi un taux élevé d'Entérobactéries et de Staphylocoque. L'identification par les galeries API STAPH et API20E nous révèle l'existence d'*E.coli* et de trois sous espèces de *Staphylococcus* : *Staphylococcus sciniri*, *Staphylococcus saprophyticus*, et *Staphylococcus hominis*.

La présence de ces microorganismes dangereux nous renseigne sur le manque du respect des règles d'hygiène au niveau des fermes (mamelles sales, mauvais nettoyage, animaux malade, machine à traire contaminée, ect....), qui rendent le lait contaminé et le manque de l'hygiène aussi pendant la fabrication du jben.

Mots clé : Jben, Analyses physicochimiques, microbiologique bactéries pathogène, identification.

Abstract

In all regions of Algeria, several types of cheese are derived from the processing of raw goat, cow or sheep milk by traditional methods. Among the traditional Algerian dairy preparations "Jben" is manufactured in several regions of the country by different methods and is even marketed. Thus we were interested in studying this type of cheese starting with physico-chemical and then microbiological analyzes

Four samples of "jben" are studied, they come from the locality of Ain Sefra. They are prepared from raw cow's milk and "Hakka" which is a rennet traditionally prepared to facilitate the coagulation of milk.

The physico-chemical analyzes show that our "jben" is more or less acidic. Microbiological analyzes show that it is rich in lactic flora, it also contains fecal contamination germs such as fecal coliforms, and faecal streptococci, it contains Also bacteria of alteration like *Bacillus*, and yeasts and molds. Our Jben also contains a high level of Enterobacteriaceae and *Staphylococcus*. The identification by the galleries API STAPH and API20 E reveals the existence of *Esherichia coli*; And three *Staphylococcus* species: *Staphylococcus sciniri*, *Staphylococcus saprophyticus*, and *Staphylococcus hominis*

The presence of these dangerous microorganisms informs us about the lack of respect for hygiene rules on farms (dirty breasts, bad cleaning, sick animals, contaminated milking machine, ect...), which make the milk contaminated and Lack of hygiene also during the manufacture of jben.

Keywords: Jben, Physicochemical analysis, microbiological pathogenic bacteria, identification.

ملخص

في جميع مناطق الجزائر، عدة أنواع من الجبن تأتي من التحول حليب البقر أو الأغنام والماعز الخام بالطرق التقليدية. ومن بين الاستعدادات الألبان التقليدية الجزائرية "الجبن" يتم في عدة مناطق من البلاد بطرق مختلفة، وحتى يتم تسويقها. لذلك نحن مهتمون في دراسة هذا النوع من الجبن بدءا من تحليل الفيزيائية والكيميائية والميكروبيولوجية من هذه الدراسة قمنا بتحليل أربع عينات من الجبن المصنوع بمنطقة عين صفراء من البقر الخام واستخدام المنفحة الحيوانية " الحكة " التي أعد تقليديا لتسهيل تخثر الحليب.

تظهر التحاليل الفيزيائية والكيميائية أنها أقل أو أكثر حمضية. والتحليل الميكروبيولوجية تبين أن أنها غنية في النباتات اللاكتيك، كما أنه يحتوي على البكتيريا التلوث برازي مثل : عينات تحتوي على البكتيريا التلوث برازي مثل :

Bacillus, les levures, moisissures مثل البكتيريا التلف مثل *les coliformes fécaux* et *les streptocoques fécaux*

API STAPH و API20E

Staphylococcus sciniri, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus homini*

Escherichia coli,

وجود هذه الكائنات الحية الدقيقة الخطيرة يخبرنا عن عدم الامتثال لقواعد النظافة على مستوى المزرعة (الضرع القذرة، والحيوانات المريضة، الملوثة آلة الحليب، الخ...) التي تجعل من الحليب الملوث و انعدام النظافة أيضا أثناء تصنيع الجبن.

الكلمات المفتاحية : الجبن، التحليل الفيزيوكيميائية والميكروبيولوجية. البكتيريا المسببة للأمراض.