

Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Suivi de la qualité microbiologique du
lait cru après sa transformation en
fromage et en lben**

Présenté par :

Bounouar Nachida & Guerfi Chana

Soutenu le : **20 Juin 2018**

Devant le jury composé de :

Mr Nabti El

Mme Benachour k

Mme Faradji-Hamma S

Professeur

MAA

MCA

Président

Encadreur

Examineur

Année universitaire : 2017 / 2018



DEDICACES

Avec l'aide du tout Puissant, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie :

A mes très chers parents, les prunelles de mes yeux

*A ma très chère mère **Aicha** le symbole de bonté, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, tu m'as tellement donné aussi que je n'ai pas assez de mots pour t'exprimer. Vous avez toujours été près de moi lorsque j'avais du chagrin, mais aussi lors de multiples moments de pur bonheur que nous avons vécus ensembles. Je ne peux que prier afin que le Bon Dieu te maintienne très longtemps parmi nous et en bonne santé.*

*A mon très cher Père **Smail** qui a été mon ombre durant toutes les années de mes études, qui m'a permis de les suivre dans les meilleures conditions possibles. Vous avez le droit de recevoir mes chaleureux remerciements ; Si j'en suis là aujourd'hui, c'est grâce à DIEU et à vous, je vous aime très fort.*

A mes chers frères,

*Mes chères soeurs **Karima**, **Samia** et **Sakina**.*

Toutes mes nièces et tous mes neveux que j'aime beaucoup.

*A ma chère binôme **CHANA** et toute sa famille*

A mes Amis en particuliers: Rania, Sonia et Hanane, Meriem, Bariza,

Sonia, Fouad, Djilali, sabrina, karima, assia.

A tous les étudiants de la promotion Microbiologie Appliqué

Et à tous ceux qui me sont chers.

NACHIDA

Dédicaces

A mon défunt grand-père

A la personne a qui je dédie spécialement ce modeste travail, celui qui a toujours voulu me voir excellé dans mes études et celui qui m'encourageait sans cesse, j'espère que la ou tu es, tu seras fier de moi.

A mes chers parents et grand-mère

Merci pour tout votre soutien, votre amour et vos encouragements.

A mes frères et sœurs

MASSI, YASMINE ET MESSAD, merci d'être la.

A Ma camarade

NACHIDA, pour ces quatre mois de travail

A mes chères amies

LAMIA, SABRINA Z, SARAH, THIZIRI, SABRINA G, KARIMA G, THANINA , KARIMA B , ASSIA, KARIMA B .



GUERFI CHANA



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

Nous tenons à adresser nos remerciements à madame :

BENACHOUR KARIMA,

*notre promotrice qui nous a permis de réaliser ce travail dans les meilleurs
conditions, et nous sa fait bénéficier de ses compétences scientifiques, ses
qualités humains et sa constante disponibilités.*

Nous adressons nos remerciements aux membres du jury :

*Le président de jury Mr Nabti N,
l'examinatrice Mme Ferradji.S pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

Nos remerciements vont également :

*A tout le personnel du laboratoire de microbiologie
Au personnel de notre faculté, du doyen jusqu'aux agents de sécurité.
Enfin, je remercie, tous ceux qui de près ou de loin, ont contribué à la
réalisation de ce travail.*

Liste des abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation.

AT : Acidité Titrable.

ATB : Antibiotique.

B.N : Bouillon Nutritive.

Ech : Echantillon.

E.coli : *Escherichia*

Fr : Fromage.

FTAM : Flore Totale Aérobie Mésophile.

GC : Giolitti Cantoni.

GN : Gélose Nutritive.

Lb : L'ben.

MRS : Man-Rogosa-Sharpe.

MH : Mueller Hinton.

NaOH: hydroxyde de sodium.

UFC: Unité Formant Colonie.

S.aureus : *Staphylococcus* .

Liste des figures

Figure 01 : Limitation géographique des quatres régions.....	13
Figure 02 : Etapes de fabrication du fromage.....	16
Figure 03 : Dénombrement sur gélose GN.....	17
Figure 04 : Dénombrement sur gélose MRS.....	18
Figure 5 : Résultats du ph du lait cru et du l'ben.....	24
Figure 6 : Résultats de l'antibiogramme du <i>S. aureus</i>	31
Figure 7 : suivi du pH du l'ben au cours de 22jours.....	31
Figure 8 : Suivie de l'acidité Dornic des échantillons de l'ben au cours de 22 jours.....	32
Figure 9 : Aspect du fromage après conservation.....	34
Figure 10 : Résultats de recherche de la flore totale du lben sur milieu GN.....	35
Figure 11 : Résultats de recherche de la flore totale du fromage sur milieu GN.....	35
Figure 12 : Résultats de recherche de la flore lactique sur milieu MRS.....	36
Figure 13 : Aspect des différents échantillons sur GC au cours de leur conservation.....	38

Liste des tableaux

Tableau I : Valeurs moyennes des principaux constituants du L'ben.....	7
Tableau II : Caractéristiques physico-chimique du l'ben artisanal.....	7
Tableau III : Les modifications du l'ben au cours du stockage.....	9
Tableau IV : sites de prélèvement et information sur les vaches laitières.....	14
Tableau V : Résultat de l'analyse microbiologique du lait cru de vache.....	25
Tableau VI : Critères microbiologiques du lait cru	26
Tableau VII: Résultats des analyses microbiologique du lben.....	26
Tableau VIII: résultats des tests d'identification de <i>S.aureus</i>	27
Tableau IX : les résultats d'identification d' <i>E.coli</i>	29
Tableau X: résultats des antibiogrammes des souches présumé de <i>S.aureus</i>	30
Tableau XI : résultats de dénombrements pour la flore totale.....	34
Tableau XII : Les résultats de dénombrements des bactéries lactiques.....	36

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Sommaire

Introduction.....	1
Synthèse bibliographique	
I. Le lait	2
I.1. Composition générale du lait de vache et facteurs influençant.....	2
I.2. Propriété physico-chimiques du lait	3
I.3. Propriétés organoleptiques.....	4
I.4. Les sources de contaminations du lait.....	5
I.5. La flore microbienne du lait.....	5
I.6. La microflore de contamination.....	6
II. L’ben.....	7
II.1. Généralités.....	7
II.1.1. Le l’ben traditionnel.....	7
II.2. Composition du l’ben.....	8
II.3. Propriétés physico-chimiques du l’ben.....	8
II.4. Le procédé de fabrication du l’ben traditionnel.....	9
II.5. La microbiologie du l’ben.....	9
II.6. La qualité du l’ben.....	9
II.7. Les modifications du l’ben au cours du stockage.....	10
III. Fromage.....	10
III.1. Caractéristiques physico-chimique.....	10
III.2. Caractéristiques microbiologiques.....	10

I. Matériel et Méthodes

1. Prélèvement.....	12
2. Analyses physico-chimique des échantillons du lait cru et du l'ben.....	14
2.1. Mesure du pH	14
2.2. Détermination de l'acidité titrable.....	15
2.3. Test d'ébullition.....	15
3. Fabrication du l'ben et du fromage.....	15
4. Examen organoleptique du lben et fromage.....	16
5. Analyses microbiologiques des différents produits obtenus (l'ben et fromage).....	16
5.1. Dénombrement	16
5.2. Recherche	18
5.2.1. <i>E.coli</i>	18
5.2.2. <i>S.aureus</i>	18
5.2.2.1. L'enrichissement.....	19
5.2.2.2. L'isolement.....	19
6. Purification.....	19
7. Identification et caractérisation.....	19
7.1. Test phénotypique.....	19
7.2. Test biochimique.....	20
8. Resistance aux antibiotiques.....	23

II. Résultats et interprétations

1. Analyse physico-chimique.....	24
2. Analyses microbiologique du lait cru et du l'ben.....	25

3. Tests d'identification (<i>S.aureus</i> et <i>E.coli</i>).....	27
4. Résistance aux ATB.....	30
5. Suivie des paramètres physico-chimiques (lben et fromage).....	31
6. Suivi de la qualité organoleptique du lben et du fromage.....	33
7. Suivi des flores bactériennes dans le l'ben et le fromage.....	34
7.1. Suivi de la flore total.....	34
7.2. Suivi des bactéries lactiques.....	36
7.3. Suivi de <i>Staphylococcus aureus</i>	38
Conclusion.....	39

Références bibliographiques

Annexes



Introduction

L'Algérie est un pays de tradition laitière et il en est aussi le premier consommateur en Maghreb. Le lait et les produits laitiers occupent une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens **(Hamiroune et al, 2014)**.

Le lait par ses caractéristiques, présente l'inconvénient d'être facilement altérable surtout si les conditions climatiques telles que la température interviennent, donc il faut assurer et garantir sa qualité microbiologique depuis la traite jusqu'à sa consommation. En effet, le lait constitue un milieu favorable à la croissance de plusieurs espèces de microorganismes dont certains sont pathogènes et peuvent être à l'origine de plusieurs maladies et intoxications humaines **(Abbas et al. 2001)**.

Une grande variété de produits laitiers fermentés est préparée traditionnellement en Algérie dont le but est la bio-préservation du lait pour utilisation ultérieure. Les produits laitiers traditionnels algériens importants qui ont la signification commerciale sont : Raibe, Lben, Klila, Zebda et j'ben **(Benkerroum et al., 2004)**.

Le fromage frais est fabriqué soit du lait de vache ou du lait de chèvre. Le processus de fabrication nécessite trois grandes étapes essentielles : la maturation, la coagulation et égouttage **(Randazo et al., 2002)**.

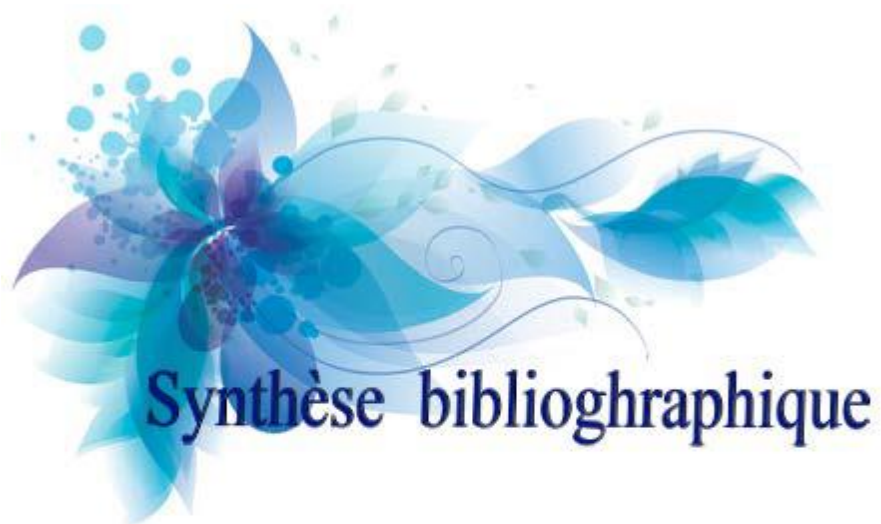
Le lben est un produit laitier transformé par une fermentation essentiellement lactique qui aboutit à l'acidification et à la coagulation du lait suivi d'un barattage **(Béal et Sodini, 2012)**.

En milieu rural, les étapes de transformation et de fabrication de ces produits par méthodes artisanale sont empiriques et peu hygiéniques **(Hadjj Semaan et al., 2011)**. Du coup leur conservation serait de courte durée.

C'est dans ce contexte que nous avons choisi de mener une étude portant sur :

La collecte de six échantillons de lait cru et de l'ben de la même origine et l'analyse microbiologique et physico-chimique.

Choisir les échantillons les moins contaminé pour la fabrication du l'ben et du fromage frais, puis faire un suivi de la flore lactique, flore totale et *S.aureus* ainsi que le pH et l'acidité Dornic au cours de la conservation à 6°C.



Synthèse bibliographique

I. Le lait

Le lait est une sécrétion mammaire normale des animaux de traite obtenue à partir d'une ou de plusieurs traites sans y ajouter ou en soustraire, destinée à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur **(FAO et OMS, 2011)**.

C'est un lait à la fois un aliment traditionnel et une boisson d'un intérêt nutritionnel, car il représente un aliment de base presque complet **(Ghazi et Niar, 2001)**.

Le lait cru est un lait qui n'a subi aucun traitement de conservation sauf la réfrigération à la ferme. Le lait cru doit être porté à l'ébullition avant consommation (car il peut contenir des germes pathogènes). Il doit être conservé au réfrigérateur à 4°C et consommé dans les 24h **(Fredot, 2006)**.

I.1.Composition générale du lait et facteurs influençant

Le lait est essentiellement composé de : lipides, les protides (caséine 80% et albumine) Les glucides (lactose) et les sels. Mais de nombreux constituants sont présents en quantité minime comme les vitamines, les enzymes..... . Selon plusieurs facteurs la composition chimique du lait varie, elle est liée à l'animal (facteurs génétiques, stade de lactation, état sanitaire ...), au milieu et aux conditions de l'élevage (saison, climat, alimentation) **(Coulon ,1994)**.

I.1.1.Variabilité génétique

Généralement les races les plus laitières présentent un plus faible taux de matières grasses et protéiques or le choix d'une race repose sur un bilan économique global. C'est pourquoi un éleveur a tendance à privilégier les races qui produisent un lait de composition élevée en matière grasse et en protéique **(Pougheon et Goursaud ,2001)**

I.1.2.Stade de lactation

Au cours de la lactation, les quantités de matière grasse, de matières azotées et de caséines évoluent de façon inversement proportionnelle à la quantité de lait produite. Les taux de matière grasse et de matières azotées, élevés au vêlage, diminuent au cours du premier mois et se maintiennent à un niveau minimal pendant le deuxième mois. Ils amorcent ensuite une remontée jusqu'au tarissement. Les laits de fin de lactation présentent les mêmes caractéristiques des laits sécrétés par les animaux âgés. En outre, les

deux taux, protéiques et butyreux, ont tendance à diminuer au cours des lactations successives (Meyer et Denis, 1999).

I.1.3.Facteurs alimentaires

Une réduction courte et brutale du niveau de l'alimentation se traduit par une réduction importante de la quantité de lait produite et une baisse variable du taux protéique (Pougheon et Goursaud, 2001).

I.1.4. Facteurs climatiques et saisonniers

La teneur en protéines passe par deux minimums un à la fin de l'hiver et l'autre au milieu de l'été et par deux maximums à la mise à l'herbe et à la fin de la période de pâturage (Pougheon et Goursaud, 2001).

I.2.Propriétés physico-chimiques du lait

I.2.1.L'acidité

L'acidité du lait résulte de l'acidité naturelle, due à la caséine, aux groupes phosphate, au dioxyde de carbone et aux acides organiques et à l'acidité développée, due à l'acide lactique formé dans la fermentation lactique. L'acidité titrable du lait est déterminée par le dosage en utilisant une solution d'hydroxyde de sodium en présence de phénolphtaléine. Bien que l'acide lactique ne soit pas le seul acide présent, l'acidité titrable peut être exprimée en grammes d'acide lactique par litre de lait ou en degré Dornic (°D). $1^{\circ}\text{D} = 0,1\text{g}$ d'acide lactique par litre de lait. Un lait cru au ramassage doit avoir une acidité $\leq 21^{\circ}\text{D}$. Un lait dont l'acidité est $\geq 27^{\circ}\text{D}$ coagule au chauffage ; un lait dont l'acidité est $\geq 70^{\circ}\text{D}$ coagule à froid (Jean et Dijon, 1993).

I.2.2. Point de congélation

Le point de congélation du lait est légèrement inférieur à celui de l'eau pure puisque la présence de solides solubilisés abaisse le point de congélation. Cette propriété est mesurée pour savoir s'il y a ajout d'eau au lait.

Sa valeur moyenne se situe entre $-0,54$ et $-0,55^{\circ}\text{C}$, celle-ci est également la température de congélation du sérum sanguin. Il y a de légères différences liées aux saisons, à la race de la vache et à la région de production. D'une manière générale tous les

traitements du lait ou les modifications de sa composition qui font varier leurs quantités entraînent un changement du point de congélation (**Mathieu, 1999**).

I.2.3.Le point d'ébullition

Le point d'ébullition est atteint lorsque la pression de vapeur de la substance ou de la solution est égale à la pression appliquée. Ainsi comme pour le point de congélation, le point d'ébullition subit l'influence de la présence des solides solubilisés. Il est légèrement supérieur au point d'ébullition de l'eau soit 100,5°C (**Amiot et al., 2002**).

I.3.Propriétés organoleptiques

I.3.1.La couleur

Le lait est un liquide blanc mat, opaque à cause des micelles de caséinates, ou parfois bleuté ou jaunâtres du fait du beta carotène ou de la lactoflavine contenue dans la matière grasse (**Jacques, 1998**).

I.3.2.L'odeur

Le lait n'a pas d'odeur propre, il s'en charge facilement au contact de récipients mal odorants, mal lavés. C'est surtout la matière grasse qui réalise fortement ces fixations. Lors de l'acidification du lait l'odeur devient aigrelette sous l'influence de la formation d'acide lactique (**Chetoune, 1982**).

I.3.3.La saveur

La saveur normale d'un bon lait est agréable et légèrement sucrée, ce qui est principalement due à la présence de matière grasse, la saveur du lait se compose de son goût et de son odeur (**Horola, 2002**).

I.3.4.La viscosité

Elle est en fonction de l'espèce, on distingue :

Un lait visqueux chez les monogastriques (jument, ânesse, carnivores et femme), qui est désigné par un lait albumineux, et le moins visqueux chez les herbivores (lait de brebis plus visqueux que celui de la vache), on l'appelle un lait caséineux (**Alais, 1984**).

I.4. Les sources de contamination du lait

A la sortie de la mamelle, le lait est peu contaminé, s'il est issu d'un animal sain et dans de bonnes conditions hygiéniques (**Faye et Loiseau, 2002**).

C'est au cours des opérations de collecte et d'acheminement vers les lieux destinés à la consommation ou à la transformation, que le lait se charge d'une population microbienne indésirable.

Parmi les causes de contamination :

- L'eau qu'elle soit utilisée pour l'abreuvement ou pour le nettoyage peut constituer une source non négligeable de contamination du lait (**Goyon et al., 2003 ; Bonfoh et al., 2006**) ;
- Les mamelles sales incorrectement lavées (**Chatelin et al., 1981**);
- le matériel de traite mal nettoyé et/ ou présentant des défauts (**Chatelin et al., 1981**) ;
- La peau des mamelles (**Piton et al., 1982**) ;
- La non élimination des premiers jets, indispensable normalement pour déceler les mammites à la ferme (**Bacic et al., 1968 ; Michel et al., 2001**);
- Enfin, la litière et l'air sont les deux composantes du milieu qui contribuent à ensemen­cer le lait durant la période de traite. Les laits traits manuellement sur litière riche en foin sont relativement chargés en bactéries hétérolactiques (**Bouton et al., 2005**).

I.5. La flore microbienne du lait

I.5.1. La flore originelle

La flore originelle des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis. Ces microorganismes, plus ou moins abondants, sont en relation étroite avec l'alimentation, la race et d'autres facteurs. Le lait sortant du pis de la vache est pratiquement stérile. Les genres dominants de la flore indigène sont principalement des microorganismes mésophile (**Essalhi., 2002**)

I.5.2. La flore de contamination

Le lait au cours de la traite, du transport et du stockage à la ferme ou à l'usine est contaminé par une grande variété de microorganismes. Une partie seulement d'entre eux peut se multiplier dans le lait si la température est favorable et le milieu propice. Il en résulte que la nature de la flore microbienne du lait cru est à la fois complexe et variable d'un échantillon à un autre et suivant l'âge du lait (**Bourgeois et al., 1996**).

I.5.3. La flore pathogène

Les bactéries pathogènes pour l'Homme peuvent être présentes dans le lait cru, ou dans les produits laitiers qui en dérivent. Elles sont capables de provoquer des malaises chez les personnes qui consomment ces produits. Les bactéries les plus importantes de cette flore pathogène sont le plus souvent mésophiles et les principaux microorganismes pathogènes associés aux produits laitiers sont : *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, *Shigella sonnei* et certaines moisissures (**Vignola, 2002**).

II. L'ben

II.1. Généralités

Les laits fermentés sont des produits laitiers transformés par une fermentation essentiellement lactique qui aboutit à l'acidification et à la gélification du lait (**Béal et Sodini, 2012**). Les laits fermentés Algériens sont le *L'ben* et le *Raïb*.

Le l'ben c'est du lait débarrassé de sa crème, et qui a subi ensuite une fermentation lactique, l'acide lactique produit provient du dédoublement de la molécule de lactose par l'action du bacille lactique. L'acide lactique a la propriété, lorsqu'il se forme en excès, d'amener la coagulation de la caséine du lait. Cette coagulation est d'autant plus active que la température ambiante est plus élevée (**Bendanou, 1981**).

II.2. Le l'ben traditionnel

Le l'ben est fabriqué à partir du lait de vache, de brebis et de chèvre. Le lait subit une acidification spontanée par sa flore originale, jusqu'à coagulation. Le caillé obtenu est introduit dans unealebasse ou il subit une forte agitation ou barattage. Selon (**Hellal, 2001**) un certain volume d'eau ou froide suivant la température ambiante est ajouté pour :

- Maintenir une température de 20°C ce qui favorise un rassemblement des grains de beurres qui facilite sa récupération.
- Diminuer l'excès d'acidité due à la transformation de lactose en acide lactique.

II.3. Composition du l'ben

La composition chimique du « l'ben » est variable, elle dépend des localités, des régions, des fermes, de la composition chimique du lait cru de départ et de la procédure de fabrication (**El Baradei et al., 2008**). Sa composition moyenne est illustrée dans le (tableau I).

Tableau I : Valeurs moyennes des principaux constituants du L'ben (**Tantaoui-Elaraki et al., 1987**).

Constituants	Valeurs
Protéines totales	25,6 g/l
Lactose	26,9 g/l
Graisse	8,9 g/l
Matière sèche totale	89 g/l

II.4. Propriétés physico-chimiques du l'ben

La composition chimique du « L'ben » est variable, elle dépend des localités, des régions, des fermes, de la composition chimique du lait cru de départ et de la procédure de fabrication (**El Baradei et al., 2008**). Néanmoins, certains indicateurs donnent une idée sur la qualité globale du produit et le processus de sa fabrication. La fermentation du lactose augmente l'acidité titrable dans le « L'ben » à plus de 0.60 % d'acide lactique, par conséquent le pH et le lactose baissent respectivement au dessous de 4,7 et 3,7 g 100g⁻¹. L'extraction du beurre diminue le contenu en lipides à environ 1,8 g.100 g⁻¹ (**Benkerroum et al., 1984**) (**Tableau II**).

Tableau II : Caractéristiques physico-chimiques du L'ben artisanal .

Propriétés	pH	L'acidité (°D)	L'extrait sec total (g/l)
L'ben traditionnel (Boubekri et al., 1984).	3,8 à 4,7 (moyenne 4,24)	63 à 110 (moyenne 81,6)	79,8 à 100,5 (moyenne 88,96)

II.5. Le procédé de fabrication du l'ben traditionnel

Le l'ben est l'un des produits-phare de la transformation artisanale du lait en Algérie, Il fait l'objet d'une large consommation et associé à d'autres plats comme le fameux couscous (**Bendimerad, 2013**). Il est utilisé surtout comme boisson rafraîchissante et apprécié pour ses qualités organoleptiques (acidité, arôme, ...), mais aussi sa valeur nutritionnelle est loin d'être négligeable (**Tantaoui-Elaraki et al., 1983**).

Sa préparation artisanale est simple (**annexe 1**), le lait est abandonné à lui-même jusqu'à sa coagulation. Celle-ci se fait à température ambiante et dure 24 à 48 h selon la saison. Le barattage est effectué manuellement dans la calebasse qui lui succède dure 30 à 40 minutes. A la fin du barattage, on ajoute généralement un certain volume d'eau (environ 10 % du volume de 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 (**Benkerroum et Tamime, 2004 ; Ouadghiri, 2009**).

II.6. La microbiologie du l'ben

II.6.1. La flore originelle

La flore microbienne impliquée dans la fermentation du lait pour la production du l'ben est composée de bactéries lactiques mésophile, responsable de la fermentation lactique et le développement d'arômes caractéristiques du l'ben (**Ouadghiri, 2009**). Les espèces dominantes dans le l'ben sont : *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*.

II.6.2. La flore de contamination

L'Homme, l'animal et l'environnement peuvent contaminer le l'ben par des microorganismes pathogènes: *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp* et certaines moisissures (**Vignola, 2002**).

Les coliformes, streptocoques fécaux, déterminent la qualité hygiénique du produit (**Tantaoui-Elaraki et al., 1983**).

II.7. La qualité du l'ben

L'obtention reproductible de produit d'excellente qualité gustative, nutritionnelle et sanitaire est le principal problème qui rencontre les industriels et les producteurs artisanaux. En effet, de nombreux paramètres influent sur le bon déroulement de la fermentation :

- La matière première, dont la qualité varie considérablement en fonction des saisons, de l'origine et de la matière qu'avec ces matières ont été traitées avant leur transformation.
- Les micro-organismes qui peuvent se développer naturellement ou êtreensemencés. **(Renault, 1998)**

II.8. Les modifications du l'ben au cours du stockage

Les 3 principales catégories de modifications du l'ben au cours du stockage sont : la modification du gout, de l'apparence et de la texture **(Tableau III)**.

Tableau III : Les modifications du l'ben au cours du stockage.

Les types de modification	Les défauts	Les causes
L'apparence	La décantation (synérèse) (Boudier, 1990) .	-Température trop élevée pendant le stockage. -La teneur en matière sèche trop faible.
	La production du gaz (Boudier, 1990) .	-Contamination par les levures ou les coliformes.
La texture	Trop liquide (Boudier, 1990) .	-Mauvaise incubation (temps trop court). -La teneur en matière sèche trop faible.
	La texture granuleuse (Boudier, 1990) .	-Teneur en matière grasse trop élevée. -Mauvais choix dans les ferments.
Le gout	L'acidité excessive (Boudier, 1990 ; Weber, 1994) .	-Maturation trop poussée du lait. -Conservation du produit à température élevée.
	L'amertume (Moller, 2000) .	-Hydrolyse des caséines.

III. Le fromage

Selon la norme du Codex Alimentaires et la norme internationale **FAO/OMS**, le fromage frais ou non affiné est du fromage qui est prêt à la consommation peu de temps après fabrication. Aux termes de la réglementation française, la dénomination «fromage» est réservée à un produit fermenté ou non, obtenu par coagulation enzymatiques du lait, de la crème ou de leur mélange, suivie d'égouttage. Tous les fromages frais ont une date limite de consommation de 24 jours (**Luquet et Corrieu, 2005**).

III.1. Caractéristiques physico-chimique du fromage

Les Caractéristiques physico-chimiques du fromage dépendent de celles du lait cru qui à son tour dépend de la race des animaux et leur type d'alimentation (**Poznanski et al., 2004**). D'après les travaux de **Ennahdi, (1980)**; **Hamama et Bayi, (1990)**, le fromage est caractérisé par une acidité titrable relativement élevée (en moyenne 1,04% d'acide lactique) et un pH faible (4,2 en moyenne), ce qui témoigne de la présence d'une fermentation lactique active.

III.2. La microbiologie du fromage

III.2.1. La flore originelle

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

III.2.2. La flore de contamination

La présence d'une flore de contamination fécale parfois à des taux très importants dans le fromage est révélatrice des conditions d'hygiène pratiquées dans les ateliers de préparation de ce produit. La nature acide du jben n'est pas une garantie contre la présence des germes pathogènes. Dans ce produit traditionnel et d'après **Hamama, (1988)**, la présence de *Salmonella* est de 10% et celle de *S.aureus* est de 17,4%,

III.2.2. Flore d'altération

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



Matériels et Méthodes

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie 1 de l'université de Abderrahmane Mira sous la direction de Mme **Benachour K**, dans le but de faire une analyse microbiologique d'un lait cru de vache récolté au niveau des trois régions d'**Aokas**, **Tizi N'Berber** et **Vaccaro** et **Souk El Tnine** et le suivi de la stabilité de la flore lactique et pathogène du l'ben artisanal et fromage fabriqué à base de ce dernier, d'une période allant du mois de Février au mois de Mars.

D'une manière générale, il s'agira de rechercher et de dénombrer et de faire le suivi de :

- Les bactéries lactiques.
- La flore totale.
- Les coliformes totaux (*E.coli*).
- Les staphylocoques.

De ce fait les analyses Microbiologiques ont été appliqués sur tous les échantillons prélevés de

- Le lait cru.
- L'ben.
- Le fromage frais.

Obtenus à partir de la transformation du lait cru utiliser

1. Prélèvement :

Les six échantillons collectés (Ech1, Ech2, Ech3, Ech4, Ech5, Ech6) du lait cru de vache proviennent des quatres régions : Aokas, Souk El Tnine Tizi n Berber et Vaccaro situé sur la cote de la wilaya de Bejaia (**Figure 1**).

Ce choix de ces quatres régions est basé sur la dominance de l'élevage bovin laitier.

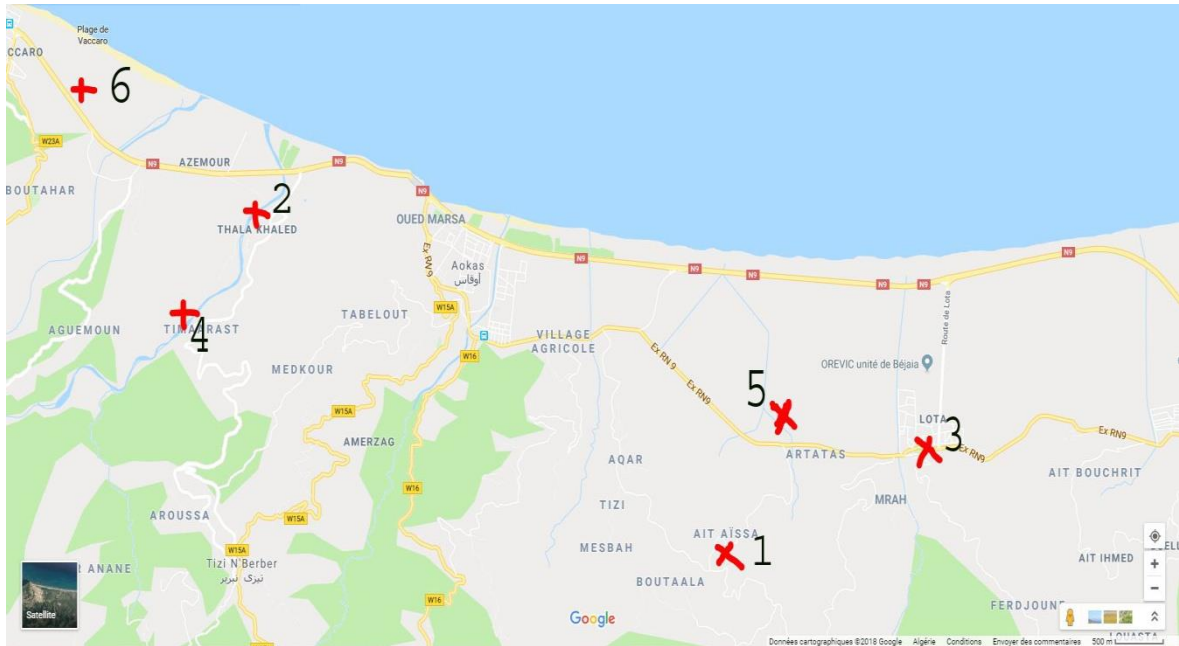


Figure 1. Limitation géographique des quatres régions (Google earth).

1.1. Déroulement de l'enquête sur le terrain

Un entretien a été réalisé avec les éleveurs lors de plusieurs passages effectués. Le manque d'information a été comblé par les observations, on s'est intéressé essentiellement dans le questionnaire oral aux trois aspects suivants :

- **Les variables de structure** : la surface agricole utile, la surface agricole céréalière, la surface agricole irriguée, la surface fourragère, les principales ressource en eaux (forage ; puits...), la production végétale, l'effectif bovin.
- **Les variables de la conduite alimentaire** : les modes d'alimentation du cheptel, les quantités et les types de fourrage et du concentré consommés.
- **Les variables d'hygiène** : type et fréquences de nettoyage des étables, les préliminaires de la traite, type de traite, présence ou absence de lavage des mamelles...

Le **tableau IV** résume les sites de prélèvements et les informations sur les vaches laitières :

Tableau IV : sites de prélèvement et informations sur les vaches laitières.

Echantillons	Localisation	Age	Alimentation
1	Aokas (Ait Aissa)	4ans	Herbe, foin, blé, l'orge, luzerne, colza, céréales
2	Aokas (Tala Khaled)	5 ans	
3	Souk El Tnine (Lota)	3ans	
4	Tizi N'Berber (Timaarest)	2ans	
5	Aokas (Tourneau)	5ans	
6	Vaccaro	3ans	

1.2. Les conditions de prélèvement

Le prélèvement (traite) est effectué afin d'éviter la contamination de la mamelle par de nombreux microorganismes présent sur la peau de la vache ainsi que sur celle du manipulateur.

1.3. Matériels de prélèvement et transport

Des flacons stériles en verre munis d'un bouchon hermétique à enfoncer ou à visser ont été utilisés.

Le transport des échantillons est effectué dans une glacière à 5°C. Une fois arrivé au laboratoire les échantillons sont mis au réfrigérateur à 4°C.

2. Analyses physico-chimique des échantillons du lait cru et du l'ben collectés

2.1. Mesure du pH

Le pH des échantillons a été déterminé en utilisant un pH-mètre numérique (**BANTE pH920**). Avant d'entreprendre les mesure l'électrode du pH-mètre est rincé avec de l'eau distillée et séché avec du papier absorbant .La mesure se fait par l'introduction du

bout de l'électrode dans le produit laitier jusqu'à la stabilisation de la valeur du pH qui s'affiche sur l'écran. Avant d'entreprendre une autre mesure, l'électrode doit être à nouveau nettoyée puis rincée comme précédemment (Owusu-Kwarteng *et al.*, 2012).

2.2. Détermination de l'acidité titrable

L'acidité titrable du lait est exprimée en (degré Dornic) c'est-à-dire en décigramme d'acide lactique par litre de lait (AFNOR, 1985). Il s'agit du titrage de l'acidité par la soude Dornic (N/9) en présence de phénol phtaléine à 1% comme indicateur.

À l'aide d'une pipette graduée stérile, on prélève 10ml de lait auxquels nous ajoutons 2 à 3 gouttes de phénol phtaléine à 1%. On procède au titrage par NaOH jusqu'à l'apparition d'une couleur rose claire qui indique la fin du titrage.

L'acidité en degré Dornic est égale au volume de NAOH consommé multiplié par 10 (Mathieu, 1998).

$$\text{Acidité (°D)} = V \cdot 10$$

V : volume de la chute de la burette en ml (NF V 04-369, 1974).

2.3. Test d'ébullition

Les laits anormaux (lait de mammites ou lactosérum) où les laits acidifiés se coagulent à l'ébullition (Pien, 1971).

Un tube de 10 ml du lait cru est mis à ébullition dans un bain-marie à 100°C pendant 5 min.

3. Procédé de fabrication du l'ben et du fromage

Pour la mise en point du l'ben, les différentes étapes ont été suivies :

Trois échantillons du lait cru ont été mis dans des bocaux d'un litre qui sont incubés à 30°C dans l'étuve jusqu'au caillage du lait pendant 18h à 24h. Puis un barattage manuel a été effectué pour les échantillons 2 et 4 pendant 20min à température ambiante. Un volume d'eau froid a été ajouté de temps à autre afin de soustraire le beurre (écrémage).

Le l'ben obtenu est conservé au réfrigérateur à 6°C pendant 22 jours pour le suivi des différents paramètres (pH, acidité titrable) et la qualité microbiologique.

Pour l'échantillon 6, on a opté pour la fabrication d'un fromage frais sans présure à cause de son très bon caillé, en suivant les étapes mentionné sur la **figure 2**.

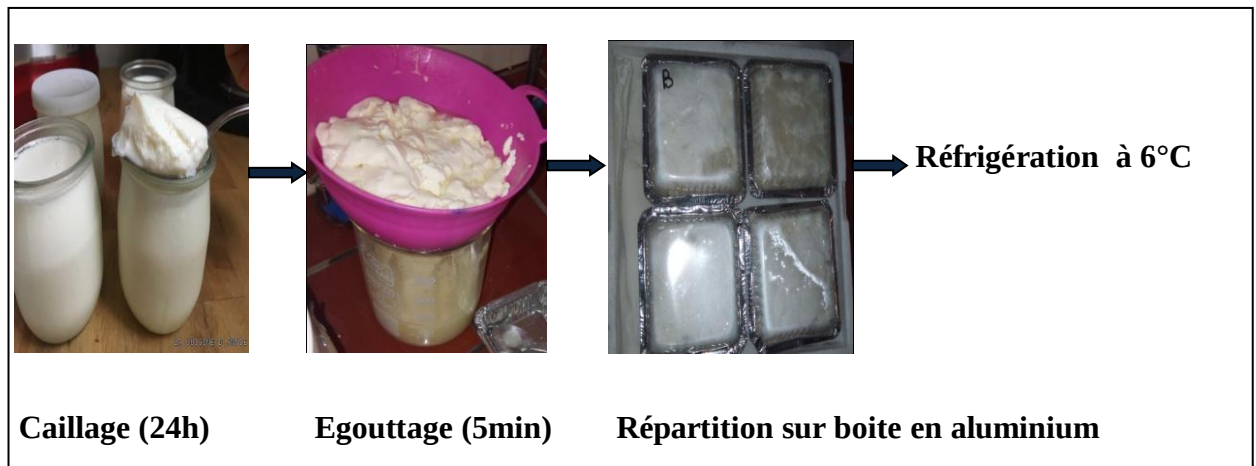


Figure2 : Etapes de fabrication du fromage.

4. Examen organoleptique

C'est un simple examen qui porte sur l'évaluation sensorielle de la couleur, l'odeur et de l'aspect.

5. Analyses microbiologiques des différents produits obtenus (l'ben et fromage)

La solution mère est préparé en mélangeant 10g du produit avec 90ml d'eau physiologique pour le fromage (**Lebres et al., 2002**).

Les dilutions décimales ont été obtenues en introduisant 1ml de la solution mère à l'aide d'une micropipette dans 9ml d'eau physiologique. La dilution 10^{-1} est obtenu et ainsi jusqu'à la dilution 10^{-6} .

5.1 Dénombrement

5.1.1. Dénombrement de la flore total mésophile(FTAM)

La recherche de la flore totale mésophile est effectuée sur gélose nutritive(GN). On transfère à l'aide d'une pipette stérile dans une boîte de Pétri, une prise d'essai de 1ml des dilutions décimales (10^{-5} à 10^{-6}). La gélose GN en surfusion est coulée dans les boîtes de Pétri, ensuite un remuage a été effectué pour permettre une répartition homogène des colonies. Enfin une incubation à 30°C pendant 24h à 72h (**Figure 3**).

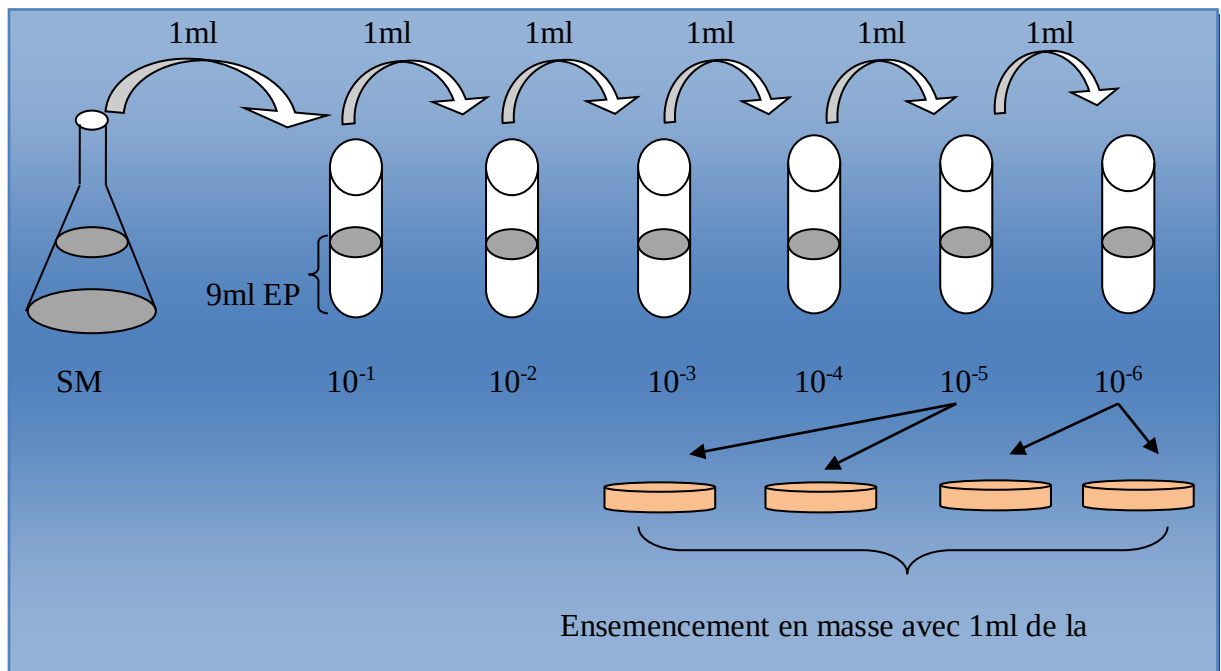


Figure 3 : Dénombrement sur gélose GN

Après incubation, les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies sont retenues, au niveau de deux dilutions successives. Les colonies ont été compté pour chaque dilutions pour déterminer le nombre d'UFC/ml pour le lait cru et l'ben, d'UFC/g pour le fromage, en utilisant la formule suivante :

$$N = \frac{\Sigma C}{(n_1 + 0,1n_2)d}$$

- **ΣC** : la somme des colonies comptées sur les boîtes retenues.
- **n_1** : nombre de boîtes retenues dans la première dilution.

- **n2** : nombre de boîtes retenues dans la seconde dilution.
- **d** : dilution à partir de laquelle les premiers dénombrements sont obtenus.

5.1.2. Dénombrement de la flore lactique

Dans le but d'apprécier la charge en bactéries lactiques de types sauvage de produits laitiers traditionnels analysés (l'ben et fromage), un ensemencement en masse dans la gélose MRS est effectué à partir de deux dilution successive approprié (10^{-4} et 10^{-5}) des échantillons (lait cru, l'ben et fromage) (**figure4**).

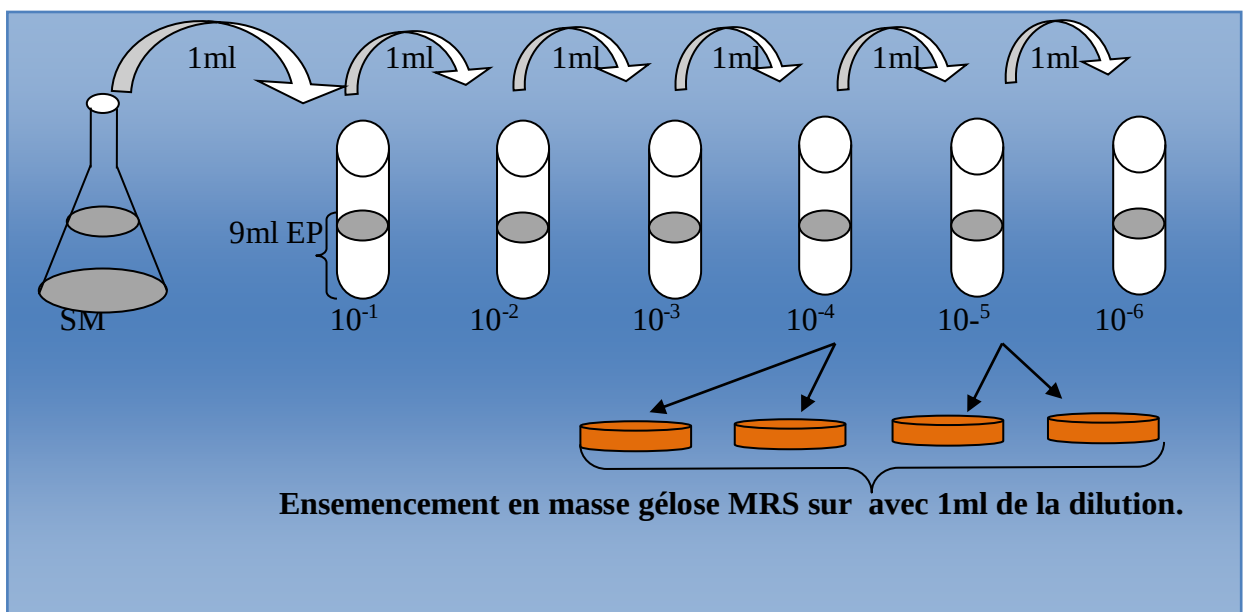


Figure 4: Dénombrement sur gélose MRS

5.2. Recherche

5.2.1. Recherche d'*E.coli*

A partir de la solution mère et de la dilution 10^{-1} des trois échantillons du lait cru (Ech2, Ech4 et Ech6), on a ensemencé en masse 1 ml sur la gélose EMB. une incubation est réalisé a 44°C pendant 24H à 48H. Le résultat se manifeste sous forme de colonies vertes avec éclat métallique.

5.2.2. Recherche de *Staphylococcus aureus*

Leur recherche reposent sur l'emploi de deux milieu de culture, milieu Giolitti Cantoni comme milieu d'enrichissement et le milieu Chapman et Baird Parker comme milieu d'isolement.

5.2.2.1. L'enrichissement

Un volume d'un millilitre de chaque échantillon a été prélevé et mis dans un tube à essai contenant 9ml de Giolitti Cantoni+additif (tellurite de potassium). Les tubes sont incubés à 37°C pendant 24h. La présence de *S.aureus* se traduit par un trouble noir.

5.2.2.2. L'isolement

a) Sur gélose Chapman

Le but d'utiliser la gélose Chapman est d'observer la dégradation du mannitol par le virage de la couleur rouge vers le jaune avec présence colonies dorées ou bien blanche avec le changement de couleur du milieu.

Des ensemencements en stries ont été effectué à partir des tubes de GC sur gélose Chapman. Les boites sont incubés à 37°C pendant 48h.

b) Sur Baird-Parker

Des ensemencements en stries à partir des tubes de GC ont été effectués sur gélose Baird Parker additionné de jaune d'œuf et tellurite de potassium. L'incubation s'effectue pendant 48h à 37°C.

Cette gélose a pour but de montrer la production de la lécithinase et la dégradation de la lécithine du jaune d'œuf. Le résultat se manifeste par des colonies noires avec halo claire.

6. Purification

La purification des souches de *Staphylococcus aureus* se fait alternativement sur le bouillon nutritif et la gélose Chapman.

7. Identification et caractérisation

7.1. Test phénotypique

7.1.1. Examen macroscopique

Basée sur l'observation visuelle de la culture des isolats sur le milieu solide et liquide ; pour caractériser la taille, la forme et la couleur des colonies ainsi l'aspect du trouble dans le milieu liquide.

7.1.2. Examen microscopique

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

Cela permet de différencier entre les bactéries à Gram- et à Gram+, les bâtonnets, les coques et le mode de regroupement (**Singleton, 1999**).

7.2. Test Biochimiques *S.aureus*

7.2.1. Test de Coagulase

Les colonies caractéristiques jaunes dorées sont isolées à partir du milieu Chapman, et repiquées dans un bouillon BHIB avant d'être soumises au test de la coagulase. Ce test se fait par l'addition de 0,5 ml de plasma de lapin (dans ce test c'est le plasma Humain) à 0,5ml de la culture bactérienne. L'incubation se fait à 37°C. Les lectures se font après 30min, après 1h, 2h puis après 24h. La formation d'un coagulum indique la présence d'une coagulase (**Vernozy-Rozand, 1997**).

7.2.2. Mannitol mobilité

Le mannitol est un produit de réduction de D-mannose. Il permet de rechercher simultanément la fermentation mannitol et la mobilité.

Les souches présumées *S.aureus* ont été introduites par pique centrale dans les tubes de mannitol mobilité. ces derniers sont incubés à 37°C pendant 24h.

Le virage au jaune du milieu indique la fermentation du mannitol, une diffusion dans la gélose indique la mobilité des bactéries (**Marchal et al., 1991**).

7.2.3. Test d'hémolyse

La préparation d'une gélose au sang est réalisée par incorporation de 5ml de sang à la gélose base sang. Après avoir coulé les boîtes de Pétri, un ensemencement en stries des souches présumé de *Staphylococcus aureus* est effectué. L'incubation est réalisée à 37°C pendant 24 à 48h.

Lecture

Hémolyse α : Hémolyse partielle, on observe une couleur verdâtre ou marrons.

Hémolyse β : hémolyse complète, la couleur rouge disparaît, on observe une zone incolore autour de la colonie

Hémolyse γ : pas d'hémolyse.

7.3. Test Biochimiques *E.coli*

7.3.1. Citrate de Simmons

Ce milieu ne contient qu'une seule source de carbone : le citrate seules les bactéries possédant une citrate-perméase sont capables de se développer sur ce milieu. La pente du milieu est ensemencée en strie longitudinale au moyen d'une anse contenant une souche présumé *E.coli*. L'incubation se fait à 37°C pendant 24h.

Citrate positive : culture avec alcalinisation du milieu (virage de l'indicateur au bleu).

Citrate négative : pas de culture (coloration verte du milieu inchangée) (Marchal et al., 1991).

8. Résistance aux antibiotiques

8.1. Méthode des disques

Elle consiste à mettre en contact la bactérie et le disc imbibé d'antibiotique et ce dernier diffuse dans le milieu de culture.

La gélose Mueller Hinton est coulée sur les boîtes Pétri puis ces dernières sont laissées sécher. Un ensemencement de souches présumées de *S.aureus* par écouvillonnage est

réalisé. Puis les trois discs d'antibiotiques Céphoxitine, Oxaciline et Vancomycine sont déposés.

Par manque de présence du disque de l'amoxicilline, la méthode des puits a été adoptée, et cela, En ensemençant 1ml de la souche bactérienne par inondation sur des boîtes de Petri de gélose Mueller Hinton, après séchage des puits sont creusés par un embout stérile puis 0,1ml de l'antibiotique est versé dans les puits. L'incubation est faite à 37°C pendant 24h.

La sensibilité aux antibiotiques se traduit par apparition de zones d'inhibition autour des discs et autour des puits.



Résultats et Interprétations

Au cours de cette étude, 6 échantillons du lait cru provenant de différentes régions ont été analysés pour estimer leur qualité et suivi leur conservation à 6°C au cours de 22 jours. Les résultats obtenus sont exprimés comme suit :

1. Analyse physico-chimique

1.1. pH

Les résultats du pH pour les six échantillons de lait cru ainsi que du l'ben sont exprimés dans la **figure 5**.

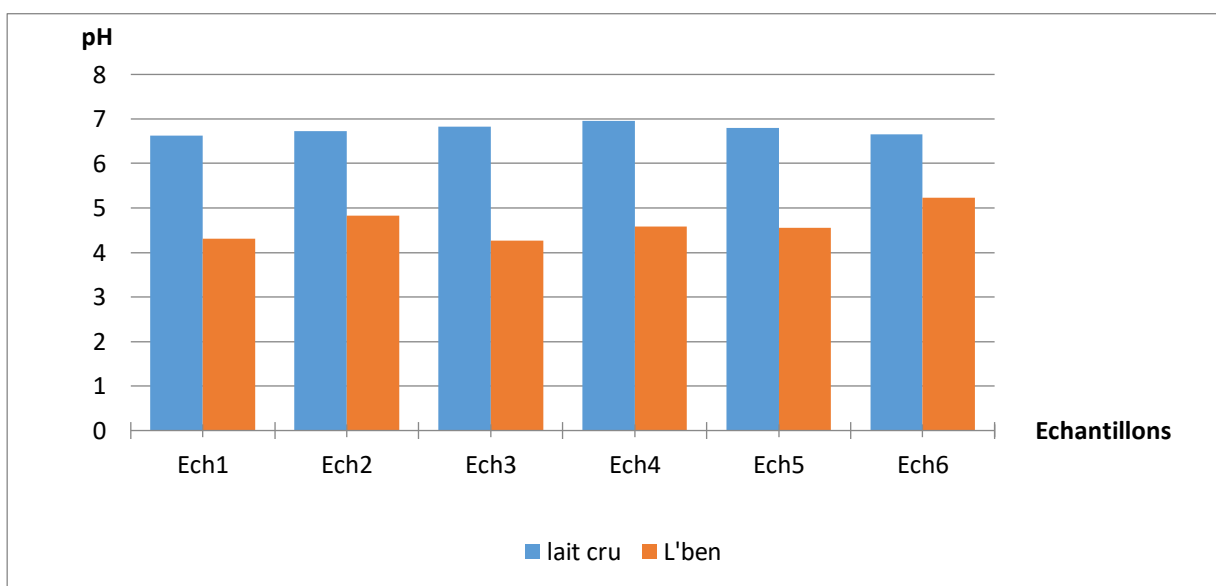


Figure 5 : Résultats du pH du lait cru et du l'ben.

La valeur du pH mesuré des six échantillons du lait est en moyenne de 6,76 avec une valeur maximal de 6,96 et une valeur minimale de 6,66. Le lait à l'état frais a un pH compris entre 6,6 et 6,8. Ces valeurs du pH du lait analysé (**figure 5**) sont dans les standards du pH du lait $6,6 < \text{pH} < 6,8$ (**J.O.R.A, 1993**), et se rapprochent de celles rapportées par certains auteurs tels que **Ouadghiri (2009)** au Maroc avec un pH de 6,7. Ces valeurs peuvent être modifiées considérablement par les infections microbiennes; les formes aiguës vers l'acidification et les formes chroniques vers l'alcalinisation (**Araba, 2006**) ce qui explique la valeur 6,96 qui tend vers l'alcalinisation.

Pour le l'ben, les valeurs du pH varient entre 5,23 et 4,31 avec une moyenne de 4,24, ce qui ne concorde pas avec celles trouvées par **Ouadghiri (2009)** d'une moyenne de 4,38. Par contre d'après les résultats obtenus par **Boubekri et al, (1996)**, le pH du l'ben a une valeur de 4,20 ce qui se rapproche de la moyenne de notre échantillon (4,24).

Certaines normes françaises imposent généralement un pH inférieur à 4,05 ou 4,6 pour le lait fermenté (Luquet et Corrieu, 2005).

1.2. Epreuve d'ébullition

Après chauffage du lait cru au bain Marie, les échantillons du lait ont réagit négativement, c'est à dire aucune coagulation n'est remarquée. Les laits normaux ne coagulent pas à l'ébullition. Un lait avec une forte acidité et avec un début d'altération, coagule après l'ébullition (Serigne, 1997).

2. Analyses microbiologiques

L'analyse microbiologique pour le lait cru et le lait ben consiste en un dénombrement de la flore totale, flore lactiques, *E.coli* et la recherche de *S.aureus*.

-Lait cru

Les résultats du dénombrement pour le lait sont mentionnés dans le tableau V.

Tableau V : Résultat de l'analyse microbiologique du lait cru de vache (en UFC/ml).

LAIT	Ech1	Ech2	Ech3	Ech4	Ech5	Ech6
<i>S.aureus</i>	Présence après 24h	Présence après 48h	Présence après 24h	Présence après 48h	Présence après 24h	Absence
<i>E.coli</i>	3.10^3	00	$4,4.10^3$	00	00	00
FT	$1,7.10^6$	$1,9.10^6$	$1,4.10^6$	$1,3.10^6$	$2,75.10^6$	$2,2.10^5$
BL	$8,5.10^7$	$3,6.10^8$	$1,5.10^6$	$4,5.10^7$	$2,6.10^5$	$1,3.10^8$

*Ind=indénombrable *BL=bactéries lactique *FT=flore totale

S.aureus est présent dans les cinq échantillons sauf dans l'échantillon 6. Ceci peut s'expliquer par le fait que la mamelle de la vache peut contenir ces microorganismes (Konte, cité par Ndiaye, 1991). Ils peuvent être aussi apportés par le personnel pendant les différentes phases de manipulation. Le résultat obtenu pour l'échantillon 6 présente une absence totale. Cela veut dire que le lait est conforme à la norme. Cette conformité est l'œuvre d'une bonne hygiène du personnel chargé à la traite.

Pour *E.coli*, une charge microbienne de 10^3 UFC/ml est révélée dans les échantillons 1 et 3, alors que dans le reste des échantillons, une absence totale.

Pour la flore totale, la majorité des échantillons dépassent la charge de 10^5 UFC/ml sauf chez l'échantillon 6 où une valeur de $2,2.10^5$ UFC/ml a été détectée. Cela est dû

probablement à la principale méthode d'hygiène respectée à savoir le nettoyage des mains et de la mamelle. En effet selon **(JORA N°35,1998) (tableau VI)**, ces seuils de contamination en flore totale dépassent la norme fixée à 10^5 UFC/ml. Les laits analysés ne sont pas de bonne qualité microbiologique. Ils sont également supérieurs aux charge maximales tolérées par les deux réglementations Française et Américaines qui sont respectivement de 5.10^5 UFC/ml et 3.10^5 UFC/ml **(Alais, 1984)**.

Quant aux bactéries lactiques, leurs charges varient de l'ordre de 10^5 à 10^8 UFC/ml. Ces résultats se rapprochent aux résultats rapportés par **Ouadghiri (2009)** qui a trouvé des valeurs qui varient de $8,2.10^3$ UFC/ml à $2,1.10^7$ UFC/ml. Les résultats obtenus montrent la richesse de ce lait en bactéries lactiques

Tableau VI: Critères microbiologiques du lait cru (J.O.R.A) en comparaison avec les résultats obtenu

Germe	Normes J.O.R.A(1998) UFC/ml
<i>S.aureus</i>	Absence
Germes aérobie	10^5
Les coliformes fécaux (<i>E.coli</i>)	10^3

-L'ben

Les résultats du dénombrement sont mentionnés dans le tableau **VII**.

Tableau VII: résultats des analyses microbiologique du l'ben.

L'ben	Ech1	Ech2	Ech3	Ech4	Ech5	Ech6
<i>S.aureus</i>	présence	présence	présence	Présence	présence	Absence
<i>E.coli</i>	absence	absence	absence	Absence	absence	$5,7.10^3$
FT	ind	$1,9.10^9$	$3,5.10^5$	Ind	ind	Ind
BL	ind	ind	2.10^8	$2,08.10^8$	ind	$1,3.10^8$

*ind= indenombrable.

Sur l'ensemble des six échantillons, la présence de *S.aureus* est observée sur 5 échantillons, alors que dans l'échantillon 6, il y a absence. Les *S. aureus* sont inhibés par un pH acide **(Guiraud, 2003)**. Dans le cas du l'ben, *S.aureus* n'a pas pu être inhibé.

En ce qui concerne *E.coli*, son absence a été observée chez cinq échantillons, alors qu'elle est de $5,75.10^3$ UFC/ml chez l'échantillon 6. L'absence d'*E.coli* dans les échantillons 1 et 3 alors qu'elle était présente dans le lait cru, cela peut s'expliquer par la production d'acide lactique des bactéries lactiques qui a un pouvoir inhibiteur(Rahmoun, 2009).

La charge desbactéries lactiques a augmenté pour l'ensemble des échantillons. Les résultats ont révélé des charges de 10^8 UFC/ml pour les échantillons 3, 4 et 6, pour le reste elles sont indénombrables, ce qui montre une forte activité d'acidification lors de la fermentation.

La charge en flore totale est élevé voir indénombrable pour certains échantillons.On observe une charge proche des normes pour l'échantillon 3.L'énumération de cette flore pour le l'ben a montré qu'il y a une contamination importante. Cela peut être corrélé avec le manque d'hygiène au niveau de laboratoire lors de la transformation et la manipulation (FAO, 1998).

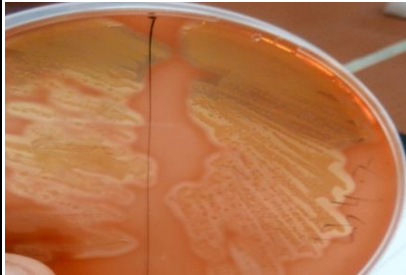
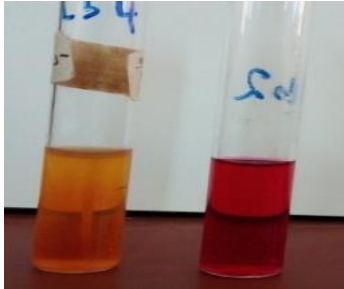
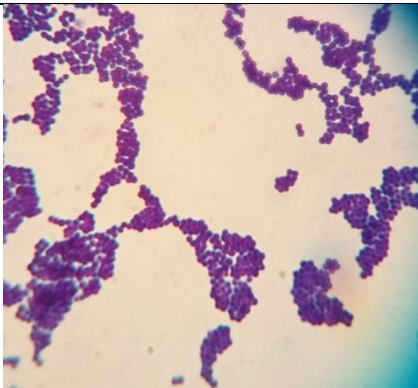
3. Testsd'identification

3.1. *S.aureus*

Le différent test effectuésur l'identification de *S.aureus* et leur résultats sont illustrés dans le **tableau VIII**.

Tableau VIII : résultats des tests d'identification de *S.aureus*

Test effectué	Résultat	Aspect
Chapman	Colonies au jaune doré entourées d'une auréole jaune	
Baird Parker	un halo clair avec un centre noir	

Hémolyse	zones verdâtres autour des colonies.	
Coagulase	Coagulase positive	
Mannitol Mobilité	Mannitol + Mobilité -	
Coloration de Gram	Des cellules à Gram positif, sous forme de cocci donnant l'aspect de grappe de raisin.	

Une fermentation du mannitol est observée sur le milieu Chapman et une dégradation de la lécithine du jaune d'œuf sur Baird Parker, cette dégradation est assurée par l'enzyme de la lécithinase de *S.aureus*.

Le test d'hémolyse révèle que les souches sont hémolyse alpha, c'est-à-dire qu'il y a eu une lyse partiel des cellules sanguines.

Le test de mannitol mobilité montre que les souches sont immobiles.

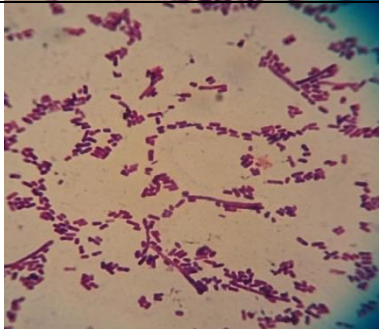
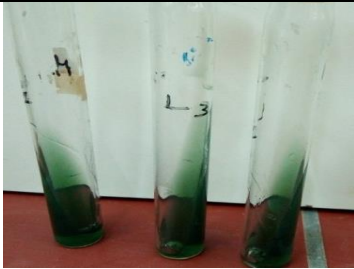
Le test de la coagulase des souches est positif, ce qui indique la présence de l'enzyme de la coagulase, c'est une enzyme capable de faire coaguler le plasma sanguin. La mise en évidence d'une activité coagulase chez une souche de *Staphylococcus aureus* est un des critères d'identification de *Staphylococcus aureus* (Delarras,2014).

La coloration de Gram a révélé que les souches sont cocci Gram positif.

3.2. *E.coli*

Les résultats de la qualité microbiologique du lait cru de vache révèle qu'il est moins contaminé par les coliformes fécaux. L'aspect des colonies sur la gélose EMB confirme la présence d'*E.coli*. Le **tableau IX** rapporte les observations macroscopiques, microscopiques d'*E.coli*.

Tableau IX: Les résultats d'identification d'*E.coli*

Test effectué	Résultat	Aspect
EMB	colonies avec éclat vert métallique.	
Coloration de Gram	Des cellules à Gram négative, sous forme de coccobacilles.	
Citrate de Simmons	Citrate -	

L'apparition de colonies avec éclat métallique est enregistrée sur gélose EMB.

L'observation microscopique de ces colonies a révélé des coccobacilles à Gram négatif (Fauchère et Avril, 2002).

Sur milieu Citrate de Simmons, les résultats sont négatifs c'est à dire que la bactérie n'a pas assimilé le citrate comme source de carbone en aérobiose.

4. Résistance aux ATB

L'effet des 4 antibiotiques est testé sur les souches présumé de *S.aureus* est mis en évidence par l'apparition d'une zone d'inhibition (zone claire) autour du disc ou du puit **Figure (6)**. Le **tableau X** montre les diamètres obtenus avec chaque antibiotique et chaque souche. Après l'application des recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie **CASFEM 2012**.

Tableau X: résultats des antibiogrammes des souches présume du *S.aureus*

ATB	Charge du disque	Diamètre (mm)					Diamètres critiques (mm)	
		L3	L4	LB2	LB4	LB6	S	R
Cefoxitine	30µg	0(R)	0(R)	0(R)	0(R)	0(R)	≥27	<25
Vancomycine	30µg	19(S)	20(S)	18(S)	18(S)	22(S)	≥17	–
Oxacilline	5µg	22(S)	21(S)	0(R)	22(S)	20(S)	≥20	<20
Amoxicilline	10mg	65(S)	33(S)	36(S)	42(S)	52(S)	≥32	<16

R : Résistance

S : Sensibilité

I : Intermédiaire

ATB : Antibiotique

L'antibiogramme réalisé sur les souches de *S.aureus* révèle que 100% des souches de staphylocoques coagulase positive sont résistantes à la cefoxitine. Une seule souche (LB 2) est résistante vis-à-vis l'oxacilline, par contre quatre souches (L3, L4, LB4 et LB6) sont sensibles à l'oxacilline. Ensuite, toutes les souches de *S.aureus* sont sensibles à la vancomycine et à l'amoxicilline.

André et al.,(2008) et Haluk C(2012) ont montrés que toutes les souches de *S.aureus* isolées à partir d'échantillons de lait cru étaient sensibles à la vancomycine, ce qui cohérent avec nos résultats.

On a également constaté un comportement variable des souches vis-à-vis la Céfexime ; un taux de résistance de 100 % qui est beaucoup plus élevé que celui obtenu par une étude de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) en Algérie durant l'année 2010 avec un taux de 11,7%. La résistance à cette famille d'antibiotiques est due à la production de Bêta-lactamases.

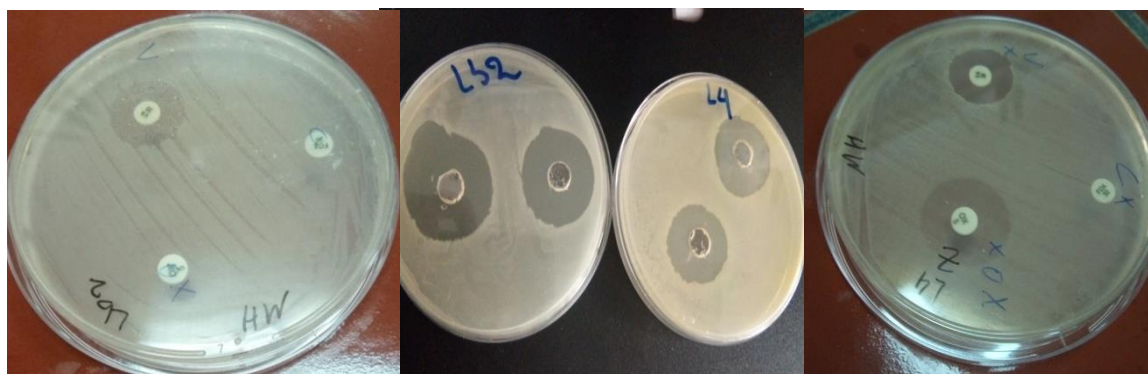


Figure 6 : Résultats de l'antibiogramme du *S. aureus*

5. Suivi des paramètres physico-chimiques des échantillons

5.1. pH

Les valeurs de pH des échantillons (l'échantillon 2 et l'échantillon 4) sont exprimées dans la figure 7.

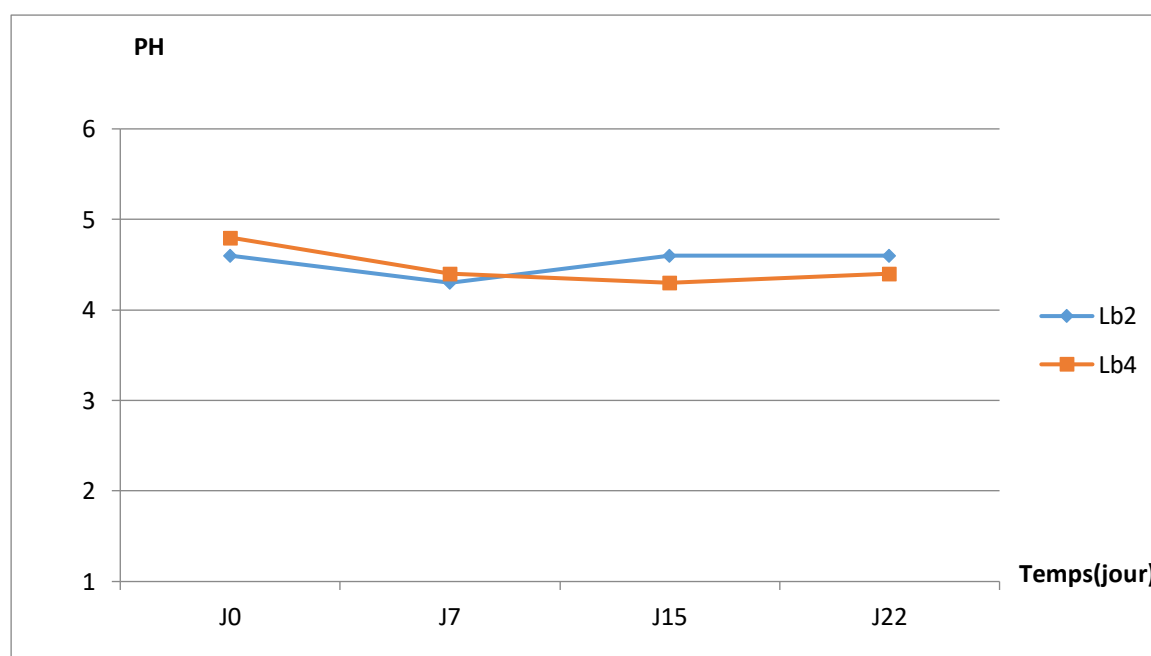


Figure 7 : Suivi du pH au cours de 22 jours.

Durant une période de sept jours, le pH du l'ben 2 décroît de 4.6 à 4.3 pendant sa conservation. Puis après sept jours, une augmentation légère du pH de 4,3 à 4,6 enregistré. Enfin au 22^{ème} jour de conservation, une légère stabilisation du pH est remarquée.

Du jour 0 jusqu'au 15^{ème} jour, la valeur du pH décroît progressivement de 4,8 à 4,4. Puis à la fin du suivi (jour 22), le pH augmente légèrement.

Les variations du pH pour le L'ben 2 entre dans l'intervalle d'acceptabilité de la norme algérienne qui tolérées de valeurs du pH 4,4 à 4.60 (J.O.R.A, 1993).

Les variations du pH pour le l'ben 4 sont comprise entre 4,3 et 4,8 et qui sont similaires a celles trouvés par Ngassem(2007). Les valeurs du $\text{pH} \geq 4,6$ peuvent s'expliquer par le pH initial du lait cru qui est assez élevé. Mais cela peut aussi s'expliquer par les conditions de caillage qui ne sont pas favorable à une forte baisse de pH.

La baisse du pH dans les deux échantillons du l'ben peut s'expliquer par l'utilisation du lactose par les bactéries lactiques pour produire de l'acide lactique, il en découle une acidification du milieu et donc une baisse du pH (Ngassem, 2007).

5.2. L'acidité Dornic

Les résultats trouvés pour l'acidité Dornic des deux échantillons du l'ben sont exprimés dans la **figure 8**.

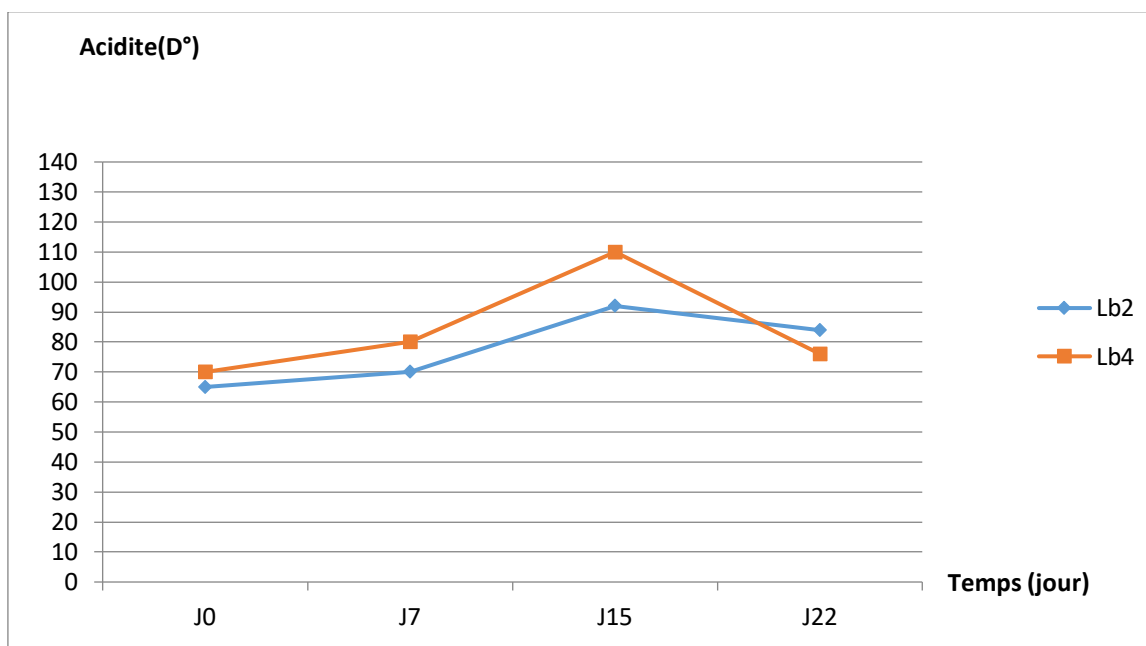


Figure 8 : Suivre de l'acidité Dornic des échantillons de l'ben au cours de 22 jours.

Au jour 0, la valeur mesurée de l'acidité Dornic du l'ben2 est de 65D° puis cette valeur augmente légèrement au septième jour (70D°), ensuite elle atteint une valeur maximale de 92D° au 15^{ème} jour, puis l'acidité Dornic redescend à 84D° au jour 22.

Au jour 0, la valeur de l'acidité Dornic du l'ben 4 est de 70D° puis elle augmente progressivement pour atteindre la valeur maximale de 110 au 15^{ème} jour. Puis au jour 22, l'acidité Dornic baisse à une valeur de 76D°.

Les valeurs de l'acidité Dornic pour le l'ben 2 et l'ben 4 sont supérieures à la norme algérienne qui tolère entre 75 et 85°D (J.O.R.A, 1993). On note une forte augmentation de l'acidité Dornic qui est due à une fermentation lactique importante (**Marnissi et al., 2013**).

D'après **Ngassem (2007)**, une acidité très élevée est due à la durée du caillage assez longue (48h).

Selon **Lamontagne et al (2002)**, les bactéries lactiques produisent plusieurs agents antimicrobiens : acide lactique, eau oxygénée, éthanol, acide acétique, diacétyl et bactériocines. Les acides sont les plus efficaces pour inhiber la croissance de bactéries indésirables dans le lait. Malheureusement, il arrive parfois que les bactéries lactiques s'inhibent entre elles.

6. Suivi de la qualité organoleptique du fromage et du l'ben

Les évaluations organoleptiques étaient un reflet de l'appréciation individuelle du goût, de l'odeur, de la couleur et de l'aspect de chaque produit analysé.

Pour le L'ben, les résultats obtenus révèlent que presque tous les échantillons ont les mêmes caractéristiques, une odeur caractéristique et agréable. Cette odeur est le résultat du métabolisme microbien et particulièrement la fermentation des citrates qui donne naissance aux produits organiques volatiles (**Benkerroum et Tamime, 2004**). Un goût également agréable acide ou légèrement acide. Cette acidité qui varie faiblement entre les différents échantillons est due à la présence d'acides organiques essentiellement de l'acide lactique. Sa couleur blanchâtre peut être expliquée par l'absence de β carotènes qui sont des composés solubles dans la matière grasse (**Paccalin et Galantier, 1986**). Le L'ben a un aspect liquide légèrement épais.

Pour le fromage frais, les résultats obtenus après coagulation au lait cru de vache, possède une texture ferme à pâte blanches (**figure 9**). Au bout de 22 jours de conservation, l'arôme

devient plus poussé. L'apparition d'une croûte a été remarquée. Le fromage a gardé son aspect (aucune protéolyse).



Figure 9 : aspect du fromage après conservation

7. Suivi des flores bactériennes dans le l'ben et fromage

Un suivi de qualité microbiologique a été effectué aux échantillons pour déterminer leur qualité hygiénique au cours de la conservation.

7.1. Suivi de la flore total

Les résultats des dénombrements des différents échantillons pour la flore totale sont montrés dans le **tableau XI**.

Tableau XI : Résultats de dénombrements pour la flore totale

Temps Ech	Jour 0	Jour 7	Jour 15	Jour 22
L'ben 2	$1,2.10^7$	$2,9.10^7$	$1,2.10^6$	$0,7.10^5$
L'ben 4	$3,4.10^8$	$1,7.10^8$	$1,1.10^7$	7.10^5
Fromage	$3,2.10^8$	$2,9.10^7$	$2,6.10^7$	9.10^6



Figure 10: Resultat de dénombrement de la flore totale du l'ben sur milieu (GN).

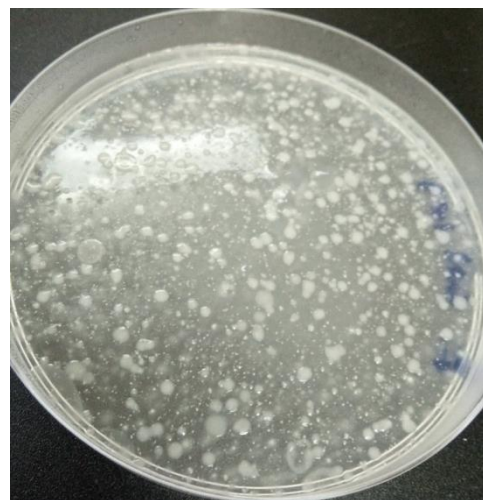


Figure 11: Resultat de dénombrement de la flore totale du fromage frais sur milieu(GN).

Pour les deux échantillons du l'ben analysés, la charge moyenne en flore totale varie de $1,2 \cdot 10^7$ à $0,7 \cdot 10^5$ UFC/ml et de $3,4 \cdot 10^8$ à $7 \cdot 10^5$ UFC/ml respectivement pour le l'ben 2 et l'ben 4 (**tableau X**). Cette différence de charge révélée entre les différents échantillons analysés témoigne la variabilité des pratiques de production d'une unité à une autre. Les résultats obtenus ne concordent pas avec les travaux de **Tantaoui-Elaraki et al. (1983)** au Maroc avec une moyenne de $2,15 \cdot 10^9$ UFC/ml. Par contre, les résultats obtenus dans ce travail concordent avec ceux obtenus par **Djouadi et Ifourah (2014)** dans une étude effectuée en Algérie et par **El Marnissiet al. (2013)** dans une étude faite au Maroc étant les moins chargés avec une moyenne de $3 \cdot 10^7$ et $7,8 \cdot 10^6$ UFC/ml respectivement. Les valeurs obtenues au cours de la conservation montrent une diminution de la charge (**tableau XII**). Cette diminution est due à l'abaissement du pH dans ce type de produit, ce qui permettrait l'inhibition de plusieurs germes (**Fields et al., 1981; Ouazzani Taybi et al., 2014**).

L'analyse microbiologique du fromage frais, fabriqué au laboratoire, montre un taux de la flore totale de $3,2 \cdot 10^8$ UFC/g juste après production. Par contre, après 22 jours de conservation à 6°C , une charge de $9 \cdot 10^6$ UFC/g a été notée. Ces résultats assez supérieures par rapport à ceux trouvées par **Rhiat.M et al, (2011)** ($0,3 \cdot 10^5$ UFC/ml) pour le fromage contrôlés et restent supérieures de celle trouvée par **Mennane (2008)** $1,43 \cdot 10^5$ UFC/ml pour le fromage frais marocain.

Chez les trois produits analysés, on constate une diminution de la charge de la flore totale. Cette diminution est probablement due à l'effet anti bactérien des bactéries lactiques. Nos

résultats sont supérieurs aux résultats rapportés par **Tantaoui- Elaraki et al (1983)** au Maroc pour une moyenne de $2,5.10^9$ UFC/ml pour 20 échantillons. Les charges microbiennes élevées en flore totale est due à la contamination initiale du lait cru utilisé (**Abdelkarim A, 2008**). Selon **Tamagnini et al. (2006)**, la production d'acide par les bactéries lactiques inhibent la croissance des pathogènes par un abaissement du pH du milieu.

Le dénombrement de la flore totale aérobie mésophile reste une très bonne méthode permettant de garantir la sécurité alimentaire des aliments dans le contrôle industriel. Un aliment dont la flore totale est trop élevée montrera de mauvaises conditions de conservation et sera considéré comme impropre à la consommation même en absence d'une flore pathogène (**Verne-bourdaïs et al., 2002**).

7.2. Suivi des bactéries lactiques

Les résultats des dénombrements de la flore lactique sont mentionnés dans le **tableau XII**.

Tableau XII: Les résultats de dénombrements des bactéries lactiques

Ech \ temps	Jour 0	Jour 7	Jour 15	Jour 22
L'ben 2	$3,1.10^8$	$3,05.10^7$	$2,4.10^6$	$1,06.10^5$
L'ben 4	$4,7.10^8$	$2,2.10^8$	$2,7.10^6$	$8,7.10^5$
Fromage	$4,8.10^8$	$2,1.10^8$	$1,7.10^6$	$2,4.10^7$



Figure 12 : Résultat de dénombrement de la flore lactique du l'ben sur milieu (MRS).

L'ben :

Les analyses au jour 0 ont donnés des valeurs importantes en bactéries lactiques pour les deux échantillons(**tableau XII**).ces résultats sont commodes avec ceux trouvés par **Biatcho(2006)** a l'ordre de 10^8 UFC/g dans le lait caillé artisanal.

D'après les résultats, on constate que le nombre des bactéries lactiques diminue au cours de la conservation (**tableauXII**). Car d'après **Dieng(2001)** le froid précoce appliqué au lait caillé permet de maintenir les ferments en état de vie ralentie.Les valeurs de la flore lactique sont inferieur à celles rapportées sur la qualité microbiologique du L'ben produit au Maroc par **Ouadghiri et al.(2009)** et **Mangia et al. (2014)** qui sont de 10^9 UFC/ml. De même **Samet-Bali et al.(2010)** en Tunisie ont enregistré une valeur moyenne de $1,17.10^8$ UFC/ml. En revanche, la charge obtenue est supérieure à celle relevée dans les études d'**EL Marnissi et al. (2013)** au Maroc et **DjouadietIfourah(2014)** en Algérie qui sont de l'ordre de 5.10^5 et 3.10^6 UFC/ml respectivement. Selon**Suliemanetal. (2006)**, les variations du nombre de bactéries lactiques d'unéchantillon à un autre est due principalement à la variation du type du lait utilisé, son origine,la microflore indigène locale, les conditions climatiques ainsi que l'environnement de lafabrication et le processus de transformation appliqué. Ce nombre élevé prouve qu'elle est lamicroflore principale responsable de la production d'acide lactique et de développement desarômes dans les laits fermentés (**Stien et al., 1999**).

Fromage :

Le **tableau** montre que les bactéries lactiques sont présentes dans le fromage analysé à des dénombrements de 10^8 à 10^7 UFC/ml durant sa conservation. Une diminution de la charge a été constate au 15^{ème} jour,ces valeurs sont plus élevées par rapport aux résultats reportés par **Mennane et al,(2007)**, où le J'ben possède des charges de (4.10^6 et $7,5.10^4$ UFC/ml), respectivement. De même, les études de **Belyagoubi et Abdelouahid(2013)** sur les bactéries lactiques du fromage ont révélé des valeurs moins élevées. Les résultats obtenus indiquent que, la flore lactique est très élevée et ce sont des flores originales de fromage.Cette diminution pourrait s'expliquer par la réfrigération qui a stoppé la multiplication de la flore lactique. Un bon produit laitier (fromage) devrait avoir une flore lactique d'environ 10^8 UFC/g a la DLC.

7.3. Suivi de *Staphylococcus aureus*

7.3.1. Sur Giolitti Cantoni



Figure 13 : Aspect des différents échantillons sur GC au cours de leur conservation.

Après 7 jours de conservation au frais à 6°C, on observe la présence de *S.aureus* sur l'ensemble des trois échantillons. Au 15^{ème} jour de réfrigération, toujours il y a présence de *S.aureus*. Mais au bout du 22ème jours de stockage, on remarque une légère diminution chez les échantillons du lben, alors que dans l'échantillon du fromage, on observe toujours la présence de *S.aureus*.

Il faut noter que les laits caillés naturels préparés artisanalement renferment souvent des *Staphylococcus aureus*. **Ndiaye(1991)** les a trouvés dans 19% des échantillons et **Ngassem(2007)** dans 4 parmi ses 40 échantillons. Cette contamination peut s'agir des staphylocoques présents déjà dans le lait qui peuvent provenir des mamelles. Ces bactéries rejoignent le lait lors de la traite (plaies, pis non lavés avant la traite), ou de staphylocoques portés par le manipulateur (sphère bucco-nasale, peau, plaies) (**Thieulon, 2005**). La contamination serait due aux mauvaises pratiques d'hygiène, trempage des doigts dans le lait, et aux mauvaises conditions de stockage, de transformation et de conditionnement.



Conclusion

Le présent travail effectué au sein de l'université de Bejaia a pour objectif, le suivi des paramètres physico-chimiques (pH et acidité Dornic) ainsi que la qualité microbiologique des deux produits laitiers artisanaux : le lben et le fromage frais, au cours de leur conservation pendant 22 jours à 6°C.

L'analyse physico-chimique a montré, que les valeurs du pH diminuent progressivement puis se stabilisent à un pH de 4,5 pour le lben. Quant à l'acidité Dornic, elle augmente puis diminue progressivement à une moyenne de 80°D au cours de la conservation.

Quant à l'analyse microbiologique, elle révèle que les deux produits contiennent une flore lactique importante de l'ordre de 10^8 UFC/ml et qui diminue faiblement au cours du stockage (de 10^8 à 10^7 UFC/ml). La flore totale montre une charge élevée de l'ordre de 10^8 UFC/g pour le fromage et 10^7 UFC/ml pour le lben) au début de la conservation, puis diminuent progressivement, ce qui est dû probablement à l'effet du pH.

L'absence des coliformes fécaux (*E.coli*) a été constatée chez les deux produits, ce qui indique une absence de contamination fécale. Par contre la présence de *S.aureus* présumés pathogènes a été trouvée dans les deux produits laitiers au début du suivi, ce qui révèle que *S.aureus* est initialement présent dans le lait. Au cours de la conservation, on remarque toujours sa présence, le froid n'a pas pu inhiber sa croissance.

Nous pouvons conclure que la conservation par le froid prolonge la durée de vie des deux produits tout en maintenant intacte les paramètres physico-chimiques et la qualité organoleptique, la diminution de la flore totale, mais n'inhibe pas le développement des bactéries pathogènes (*S.aureus*).

En perspective, pour une meilleure conservation, il faut améliorer les conditions de la traite et les opérations de préparation pour la transformation du lait car ce dernier ne subit aucun traitement thermique. Il faut sensibiliser le personnel qui peut être un facteur de la contamination exogène. L'utilisation de matériel et locaux propres peut réduire la contamination par les bactéries pathogènes. La réfrigération des produits doit se faire juste après leurs transformations.



Références bibliographiques

1. **Abbas K., Madani T., Benniou R. (2001).** Contribution au repérage de la diversité des systèmes agricoles régionaux dans les zones semi arides Algériennes. Acte du séminaire national sur la problématique de l'agriculture des zones arides et la conversion. P 268-279.
2. **Abdelkrim A., Mohamed F., Mohamed N. (2008).** Qualité microbiologique du lait cru produit dans la région de Tadla au Maroc. p5.
3. **Abdessalam A. D. (1984).** Contribution à l'étude du lait des ceintures laitières périurbaines de la zone cotonnière du Sénégal. Th. Méd. Vét. Dakar, IQ95, n021, 126p.
4. **Adesiyun, A.A. (1994).** Bacteriological quality and associated public health risk of preprocessed bovine milk in Trinidad. *Int. J. Food Microbiol.* **21** : p253–261.
5. **AFNOR., (1985)** .Contrôle de la qualité des produits laitiers —Analyses physiques et chimiques, 3ème édition: 107-121-125-167-251(321 pages).
6. **Alais C. (1984).** Sciences du lait: Principes et techniques laitiers. IVe édition, Ed. SEPARC, Paris. ,p814 .
7. **Amiot J., Fournier S., Lebeuf Y., Paquin P., Simpson R et Turgeon H. (2002).** Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait In **VIGNOLA C.L,** Science et technologie du lait – Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, ISBN:3-25-29 .
8. **Araba A. (2006).** L'alimentation de la vache laitière pour une meilleure qualité du lait. *MADRPM/DERD*, 142:Juillet 2006, p4 .
9. **Asperger H. (1994).** *Staphylococcus aureus*. In The significance of pathogenic microorganisms in raw milk (G. Hahn, édit.). Monographie, Document n° 9405, Fédération internationale de laiterie, Bruxelles, p24-42.
10. **Bacic, B., Jackson, H. and Clegg, L. (1968).** Distribution of bacteria in milk drawn directly from the cow's udder. *J. Dairy Sci.* p47–49.
11. **Béal C. et Sodini I. (2012).** Fabrication des yaourts et des laits fermentés, techniques de l'ingénieur f6315, Paris-France, 16p.
12. **Belyagoubi L et Abdelouahid D.E. (2013).** Isolation, identification and antibacterial activity of lactic acid bacteria from traditional Algerian dairy products. *advances in food sciences* 35. p 84- 85.

Références bibliographiques

13. **Bendanou. (1981).** L'industrie beurrière chez les pasteurs nomades du sud-Algérien. Communication faite à l'Office Colonial de l'Algérie. p570-580.
14. **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 ».P75.
15. **Benkerroum N, Tantaoui-Elaraki A, El Marrakchi A. (1984).** Hygienic quality of Moroccan lben .Microbiol. Alim. Nutr .2. p 199–206.
16. **Benkerroum, N., Tamime A.Y. (2004).** Technology transfert of some traditional products (Lben, Jben and smen) to small industrial scale Food Microbiology (21). p6.
17. **Biatcho N .S .(2006).** Appréciation de la mise en œuvre de l'hygiène dans une laiterie artisanale de Dakar « LE DIRFEL » : de la récolte du lait à sa transformation en lait caillé dit « SOW PUR ». p66
18. **Bonfoh B., Fané A., Traoré N. A, Coulibaly Z., Simbé C. F, Alfaroukh O., Nicolet J., Farah Z. et Zinsstag J. (2002).** Qualité microbiologique du lait et des produits laitiers vendus en saison chaude dans le district de Bamako au Mali. Bio-terre, Rev. Inter.Sci. de la vie et de la terre, N° spécial actes du colloque international, centre Suisse. Editions Universitaires de Cote d'Ivoire, p 242-250.
19. **Bonfoh B., Wasem A., Traore A.N., Fane A., Spillman N.H., Simbe C.F., Alfaroukh I.O., Nicolet. J, Farah Z, an d Zinsstag J. (2003).** Microbiological quality of cows' milk taken at different intervals from the udder to the selling point in Bamako (Mali) .food control. 14(7): p 495–500.
20. **Boubekri C., Tantaoui Elaraki A., Berrada M. et Benkerroum, N. (1984).** Caractérisation physico-chimique du lben marocain. *Lait*. p230-245.
21. **Boudier J. F, (1990) .** Produits frais In « lait et produits laitiers Vache, brebis, chèvre. Tec et Doc, lavoisier,Paris.TomeII,35-66
22. **Bourgeois C.M., Mescle J.F., Zucca J. (1996).** microbiologie alimentaire Tome1 Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments collection science et technique agroalimentaire. Lavoisier Tec et Doc. P 62-218.
23. **Chatelin M.Y., Richard J. (1981).** Etude de quelques cas de contaminations microbiennes importantes du lait à la ferme. Le Lait, INRA Editions, p80-94.
24. **Chye, F.Y., Abdullah, A. and Ayob, M.K. (2004).** Bacteriological quality and safety of raw milk in Malaysia. Food Microbiol, **21**: p535–541.
25. **Conte S. (2008).** Evolution des caractéristiques organoleptiques, physico-chimiques et microbiologiques du lait caillé traditionnel. mémoire de diplôme d'études

Références bibliographiques

- approfondies de productions animales. faculté Chiekh Anta Diop de Dakar, faculté science et technique, p38-40.
26. **Coulon J.B. et Hoden A. (1991) :** Maitrise de la composition du lait : influence des facteurs nutritionnels sur la quantité et les taux de matières grasses et protéiques. INRA Prod. Anim. 4 (5) .p361-367.
27. **Desmezeuad M. (1992).** les bactéries lactiques dans : les groupes microbiens d'intérêts laitier . p11-14.
28. **Dieng M. (2001).** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits caillés industriels commercialisés sur le marché Dakarois. Thèse Docteur vétérinaire, Université de Dakar Sénégal. 146 pages.
29. **Dillon J.C. (2008).** Place du lait dans l'alimentation humaine en région chaude. Edition A. P.G (Agro Paris Tech).p213-240.
30. **Djouadi H et Ifourah Z. (2014).** Enquête sur les conditions d'hygiène de la traite du lait et les pratiques des fabrications artisanales d'un lait fermenté type Lben. Evaluation de leur qualité physico-chimique et microbiologique .mémoire fin de cycle. Abderahmane Mira Bejaia , Algérie. Faculté des Science de la Nature et de la vie. p41.
31. **Djoughri K., Madani, S., (2015).** Etude microbiologique d'un produit laitier fermenté traditionnel (J'ben) : isolement et identification de bactéries lactiques. p16-40.
32. **Dortu C., Thonart P. (2009).** Les bacteriocines des bactéries lactiques : caractéristiques et interets pour la bioconservation des produits alimentaires. Bitechnol, Agrom,Soc, Environ. p143-153.
33. **Duboeuf J. P. (1996).** Les perspectives de développement de la filière lait de chèvre dans le bassin méditerranéen. Une réflexion collective appliquée au cas Marocain (vol.131). L.Thomas (Ed.). food and agriculture Org. 89 pages.
34. **El Marnissi B, Belkhou R, El Ouali lalami A et Bennani L. (2013).** Caractérisation microbiologique et physico-chimique du lait cru et de ses dérivés traditionels Marocain (lben et jben).les technologie de laboratoire.8(33), p100-111.
35. **El-Baradei G., Delacroix-Buchet A., & Ogier J. C. (2008).** Bacterial biodeversity of traditional Zabady fermented milk. Internationnal journal of food microbiology, 121 (3), p295-301.
36. **Ennahdi El Idrissi A. (1980).** Contribution à l'étude du fromage de chèvre, étude technologique, étude analytique. P 28.
37. **FAO/OMS, 2011 :** Codex Alimentarius : Lait et produit laitiers, 2e édition- Rome : FAO ; OMS. p136.

Références bibliographiques

38. **Faye B. et Loiseau G. (2002)** . Sources de contamination dans les filières laitières et exemples de démarches qualité. Gestion de la sécurité des aliments dans les pays en développement. Actes de l'atelier international, Montpellier, France. p11-13.
39. **Fields M., Ahmed H et Smith D. (1981)**. Natural lactic acid fermentation of corn meal. Journal of Food and Science.46, p900-902.
40. **Foltmann B.O. (1981)**. Milk clotting proteases : structure, fonction, neth. Milk, DairJ.vol : 235, p223-231.
41. **Fredot E. (2006)**.Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier. p25 .
42. **Hajj Semaan E , Dib H , Abi Ramia R et Chedid M. (2011)**. Caractérisation chimique et qualité bactériologique de produits laitiers caprins traditionnels libanais. Lebanase Science Journak. P. 21-29.
43. **Hamama A. (1992)**. Moroccan traditional dairy products. In applications of biotechnology to traditional fermented foods. National research council. Academy press, Washington D.C.p75-80.
44. **Hamiroune M., Boubekour S. (2014)**. Qualité bactériologique du lait cru de vaches locales et améliorées vendu dans les régions de Jijel de Blida (Algérie) et impact sur la santé publique. Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire (ENSV) El Harrach. Alger.
45. **J.O.R.A. N°69, 1993** : Arrêté interministériel du 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation, p16-20.
46. **Jean C., et Dijon C., (1993)**.Au fil du lait, ISBN 2-86621-172-3.p 56
47. **Jéantet R., Croguennec T., Mahaut M., Schuck P. et Brule G .(2008)**.Les produits laitiers ,2ème édition, Tec et Doc, Lavoisier. p1-3-13-14-17.
48. **Journale Officielle De La République Algérienne . (1998)**. arrêté interministériel °35 du 27 mai 1998/ Aouel Safar 1419 .
49. **Lamontagne M P., Champagne J., Reitz A., Sylvain M., Nancy G., Maryse L., Julie J.et Ismail F. (2002)** : Microbiologie de lait. Science et technologie de lait. Ecole polytechnique de Montréal. p 71-151.
50. **Lebres. (2002)**. Manuel des travaux pratiques, cours national d'hygiène et de microbiologie des aliments, unité microbiologie des laits et des produits, laitiers, institut pasteur d'Algérie, p21-27.
51. **Luquet F M. et Corrieu G. (2005)**. Bactéries lactiques et probiotiques. Edition Lavoisier, Paris. p307.

Références bibliographiques

52. **Mangia NP., Garau G., Murgia MA, Bennani A et Deiana P. (2014)**. Influence of autochthonous lactic acid bacterie and enzymatic yeast extract on the microbiological, biochemical and sensorial proprieties of lben generic products. *Journal of dairy reacherch*.81, p193-201.
53. **Marchal N., Bourdon J L. et Richard, CL. (1991)**. Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries .3ème Ed. , Doin éditeurs, Paris. 179 pages.
54. **Marnissi B., Belkhou R., El Oualilalami A., Bennani L. (2013)**. Caractérisation microbiologique et physicochimique du lait cru et de dérivés traditionnels Marocains (l ben et j ben). *Les technologiques de laboratoire*, **8(33)**. p100-111.
55. **Mathieu J., (1999)**.Initiation à la physicochimie du lait, Tec et Doc, Lavoisier, Paris. p220.
56. **Menard J L., Roussel P., Masselin-Silvin S., Puthod R., Hetreau T., Foret A., Houssin B., Aracil, C. and Le Guenic, M. (2004)**. Contamination bactérienne d'une litière de stabulation libre paillée: effet de la fréquence de paillage et proposition d'une méthode pour son évaluation. In: *Rencontres sur les Recherches autour des Ruminants*. Institut de l'Elevage – INRA, Paris, **11** : 333–336.
57. **Mennane Z., Khedid K., Zinedine A., Lagzouli M., Ouhssine M et Elyachioui M. (2007)**. Microbial characteristic of klila and jben traditionel moroccan cheese from raw cow's milk.*world journal of dairy and food science*.2(1), p23-27.
58. **Meyer C et Denis J P. (1999)**. Elevage de la vache laitière en zone tropicale. Montpellier, CIRAD, Collection Techniques. p115-145.
59. **Michel V., Hauwuy A., Chamba J . (2001)** La flore microbienne de laits crus de vache : diversité et influence des conditions de production. *Le Lait*, INRA Editions, p575-592.
60. **Moller. (2000)**. La reconstitution du lait Chap. procédés de fabrication Ed. INA, Paris Grignon, p36-37.
61. **Ndiaye M. (1991)**. Contribution à l'étude comparée de la qualité microbiologique des laits crus, laits caillés et laits en poudre commercialisés dans la région de Dakar. Thèse : Méd. Vét, Dakar, p17.
62. **Ngassam T C. (2007)** : Contribution à l'étude des caractéristiques microbiologiques des laits fermentés artisanaux au Sénégal : cas de la zone des Niayes. Thèse : Méd. Vét, Dakar, 109 pages.

Références bibliographiques

63. **Nko Sadi Biatcho. (2006).** Appréciation de la mise en œuvre de l'hygiène dans une laiterie artisanale de Dakar « LE DIRFEL » : de la récolte du lait à sa transformation en lait caillé dit « SOW PUR », p 66.
64. **Ouadghiri M, (2009).** Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés «L'ben» et «J'ben» d'origine marocaine, thèse de doctorat en Microbiologie et Biologie Moléculaire. Université Mohammed V-agdal Faculté des sciences Rabat, Maroc. p 26-28 -132.
65. **Ouazzani Taybi N., Arfaoui A et Fadli M. (2014).** Evaluation de la qualité microbiologique Scientific Research. **9 (2)**, p487-493.
66. **Owusu-kwarteng J., Akabanda F., Tano-Debrah K., Glover R L., Jespersen L. (2012).** Identification of lactic acid bacteria isolated during traditionel fyra processing in Ghana. Ghana .p72-78.
67. **Paccalin J et Galantier M. (1986).** Valeur nutritionnelle du lait et de produits laitiers. (3eme éd). Technique et Documentation (Lavoisier).p 93-121.
68. **Pien J. (1971).** Définition et contrôle du lait stérilisé. Le Lait, INRA Editions. 51 (503 504) : p176-202.
69. **Piton C., Richard J. (1982).** Causes de contamination microbienne d'importance moyenne du lait dans un groupe de fermes de la région de Rennes. Le Lait, INRA Editions, p67-74.
70. **Pougheon S .et Goursaud J. (2001).** Le lait caractéristiques physicochimiques In **Debry G.,** Lait, nutrition et santé, Tec et Doc, Paris. p212.
71. **Pougheon S. (2001).** Contribution a l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière, Ecole Nationale Vétérinaire Toulouse, France. p102 .
72. **Poznanski, E., Cavazza, A., Cappa, F. and Cocconcelli, P. S. (2004).** Alpine environment microbiota influences the bacterial development in traditional raw milk cheese. *Int. J. Food Microbiol.* **92:** p141–151.
73. **Prescott L.M., Harley J.P., Klein D.A. (2003).** Les bactéries: les Gram positif pauvre en GC. dans : « Microbiologie ». 2éme édition Française. Paris, p529-572.
74. **Randazzo. C.L. Caggia C. et Neviani C.L.E. (2009).** Application of molecular approaches to study lactic acid bacteria in artisanal cheeses. *J.Micobiol.Methods*, **78:** p 1-9.
75. **Renault P. (1998) .** OGM et alimentation in « les OGM à l'INRA» Ed. INRA, p1-4.

Références bibliographiques

76. **Rhiat M ., Hicham L., Abdelhak D., Mahjoub A., Youness C., Abdelhak D., Zakaria M et Mohammed O. (2011).** Etude bactériologique des fromages frais marocains commercialisés et des fromages fabriqués au laboratoire de biotechnologie, environnement et qualité, département de biologie, faculté des sciences, université Ibn Tofail, BP 133, 14000 Kenitra, Maroc .p7-16.
77. **Richard V J, (1990).** Production de lait cru de bonne qualité bactériologique. Microb-Hyg-alim 2 (1) : p30-33.
78. **Richter C., Tanaka T. and. Yada R.Y. (1998).** Mecanism of activation of the gastric aspartic proteinases : pepsinogen, progastricsin and prochymosin. Biochemistry Journal ,p481-490.
79. **Richter R L., Ledford R A et Murphy S C. (1992).** Milk and milk products. In: Vanderzant, C., Splittstoesser, D.F. (Eds.), Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 3rd Edition. American Public Health Association, Washington, DC, p 837–838.
80. **Samet-Bali O ., Ayadi M et Attia H. (2010).** Traditional Tunisian butter: physiological and microbial characteristics and storage stability of the oil fraction. Food science and technologie. 42, p899-905.
81. **Singleton P. (1999).** Bactériologie.4eme Edition. Dunod, Paris. p317.
82. **Souki H. (2009).** Les stratégies industrielles et la construction de la filière lait en Algerie portée et limites. Revue scientifique trimestrielle de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. p 03-15.
83. **Steijns J M. (2001).** Proteins, peptides and aminoacids. In J.Young(ed), guide to functional food ingredients. Surrey, UK : leatherhead food RA publishing.p235-275.
84. **Stien G., Blanchard F ., Rondages E et Marc I.(1999).** Une méthode de dosage en ligne du diacétyl et de l'acetaldehyde dans les yaourts, laits fermentés, beurres et margarines. Le lait. p79, 615-624.
85. **Stoll W. (2003).** Vaches laitières : l'alimentation influence la composition du lait.ed agri . n°15/2003, vol 3, Suisse. p145.
86. **Suliman A. (2006).** Chemical and microbiological quality of Garris, Sudanese fermented camel's milk product. International Journal Food Science technology **41** (3), p321–328.
87. **Tantaoui-Elaraki A. El Marakchi A. (1987).** Study of the morrocan dairy products Lben and Smen. Micro.03, p211-220.

Références bibliographiques

88. **Tantaoui-Elaraki I. A., Berrada M., EL Marrakechi A., et Berramou A. (1983).** Etude sur le lbenMarocain, Le lait **63 (198)** 230-245.
89. **Thieulon M. (2005).** Lait pathogènes staphylocoques. Revue de la chambre d'agriculture du cantal. P1-2.
90. **Tolle A. (1980).** The microflora of the udder. Bull, Int, Dairy Fed, p120.
91. **Verdier-metz I., Michel V., Delbes C., Montel M.C. (2009).** “Do milking practices influence the bacterial diversity of raw milk? “, Food Microbiologie, 26, 305-310.
92. **Verne-bourdaïs E., Bonnefy C., Guille et Leyral G. (2002).** Microbiologies et qualité dans les industries agroalimentaire. Ecole inter-états des sciences et Médecines vétérinaire de Dakar, Sénégal. 123, 127.
93. **Vernozy-Rozand C. (1997).** Méthode d'identification des staphylocoques. Technique et documentation. Paris, p246-265.
94. **Vignola C. (2002).** Science et Technologie du Lait Transformations du Lait, Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada, p250.
95. **Vignola C.L. (2002).** Science et technologie du lait –Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, p29-34
96. **Wareing P. (2005).** On farm HACCP for milk production. Int. Food Hyg. **16:** p1-9.



ANNEXES 1

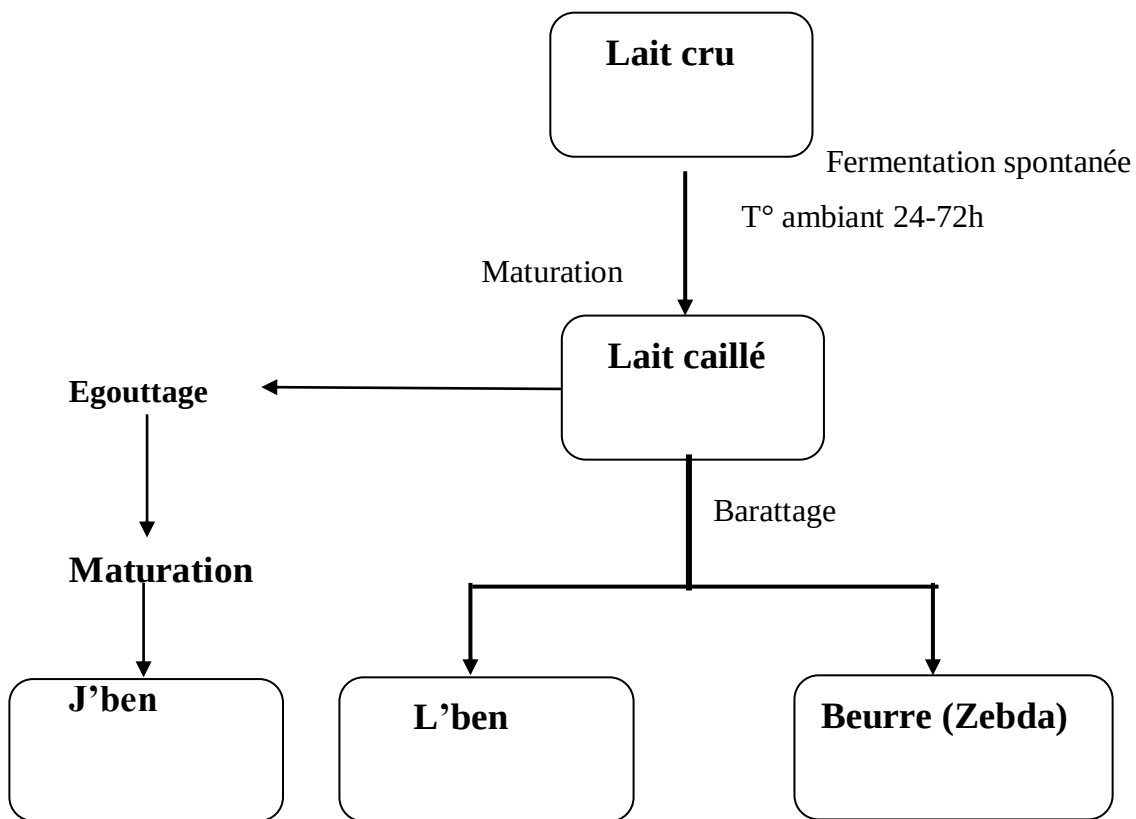


Figure 01 : Schéma de fabrication des produits laitiers traditionnels (Benkerroum et Tamime, 2004).

ANNEXE 2

Composition des milieux de culture (gélose et bouillon)**1. Gélose :**

- **Gélose Chapman**

pH : 7,3

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

- **Gélose MRS (De Man-Rogosa-Sharpe, 1960)**

pH: 6,5

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

- **Gélose nutritive (TM Media, Inde)**

Peptone	5g
Extrait de viande	1g
Extrait de levure	2g
Chlorure de sodium.....	5g

Agar	15g
Eau distillée	1000 ml

- **Gélose Baird Parker**

pH :6,7

Tryptone	10g
Extrait de viande.....	5g
Extrait autolytique de levure	1g
Pyruvate de sodium.....	10g
Glycine	12g
Chlorure de lithium	5g
Agar	15g

- **Mueller Hinton**

pH : 7,3

Hydrolysate acide de caséine.....	17,5g
Infusion de viande.....	2g
Amidon	1.5g
Agar	17g

- **Milieu citrate de Simmons**

Sulfate de magnésium	0.2g
Dihydrogénophosphate d'ammonium.....	0,2g
Citrate trisodique.....	2,5g
Bleu de bromothymol.....	0,08g
Sodium ammonium phosphate.....	0,8g
Chlorure de sodium.....	5g
Agar	14g

- **Gélose de base sang**

Mélange de peptone.....	16g
Extrait de levure.....	2g
D-glucose.....	0,5g
Chlorure de sodium.....	7g
Agar	12g

- **Mannitol mobilité**

pH : 8,1

Peptone.....	20g
Nitrate de potassium.....	1g
Mannitol	2g
Rouge de phénol	40g
Gélose	4g

2. Bouillon :

- **Bouillon MRS (TM Media, Inde)**

pH: 6,4

Peptone	10g
Extrait de viande	8g
Extrait de levure	4g
Glucose	20g
Acétate de sodium trihydraté	5,0 g
Citrate d'ammonium	2,0 g
Tween 80	1,0 ml
Hydrogénophosphate de potassium	2,0 g
Sulfate de magnésium heptahydraté	0,2 g
Sulfate de manganèse tétrahydraté	0,05 g

- **Bouillon nutritif**

pH : 7

Extrait de viande.....	1g
Extrait de levure.....	2g
Peptone.....	5g
Chlorure de sodium	5g
Eau distillé	1000ml

- **Bouillon Giolitti Cantoni**

pH : 6,9

Tryptone.....	10g
Extrait de viande.....	5g

Extrait de levure.....	5g
Chlorure de lithium.....	5g
Mannitol.....	20g
Chlorure de sodium.....	5g
Glycine.....	1,2g
Pyruvate de sodium.....	3g

- **Bouillon BHIB**

pH : 7,4

Brain infusion solids.....	12,5g
Beef heart infusion solids.....	5,0g
Proteose peptone	10,0
Glucose.....	2,0g
Sodium chloride	5,0g
Disodium phosphate.....	2,5g

ANNEXE 3

Les résultats trouvés pour le test de mannitol mobilité sont mentionné dans le tableau

Tableau I : Les résultats trouvés sont mentionné dans le tableau suivant :

Souches	Mannitol	Mobilité	Souches	Mannitol	Mobilité
L3a	+	-	L3k	+	-
L3b	-	-	L3l	+	-
L3c	+	-	L3m	+	-
L3d	+	-	L3n	+	-
L3e	+	-	L3o	+	-
L3f	+	-	L2a	+	-
L3g	+	-	L2b	+	-
L3h	+	-	L4a	+	-
L3i	+	-	L4b	+	-
L3j	+	-	L4c	-	-
L4d	+	-	Lb4e	+	-
L4e	+	-	Lb4f	+	-
L5a	+	-	Lb4g	+	-
L6a	+	-	Lb4h	+	-
Lb2a	+	-	Lb4i	+	--
Lb2b	+	-	Lb4j	+	-
Lb2c	-	-	Lb6a	+	-
Lb4a	+	--	Lb6b	+	-
Lb4b	-	-	Lb6c	+	-

Lb4c	+	-	Lb6d	+	-
Lb4d	+	-	Lb6e	+	-

ANNEXES 4

Tableau II: Résultats du test Citrate de Simmons

Souche	Utilisation du citrate
L3a	(-)
L3b	(-)
L3c	(-)
L3d	(-)
L1a	(-)
L1b	(-)
L1c	(-)
L1d	(-)
L1e	(-)

ANNEXES 5

Coloration de Gram

La coloration de Gram a été réalisée selon la technique suivante :

- 1- Déposer une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame bien propre ;
- 2- Prélever un échantillon de colonie et mélanger avec la goutte d'eau, strier et sécher par passage rapide sur la flamme d'un bec benzène ;
- 3- Couvrir le frottis par du cristal violet pendant 60 secondes ;
- 4- Ajouté du lugol pendant 30 secondes ;
- 5- Décoloré avec l'alcool 95% ;
- 6- Laver à l'eau distillée pendant 5 secondes
- 7- Ajouter la fuschine et laisser pendant 15 à 30 secondes ;
- 8- Laver à l'eau;
- 9- Après séchage déposer une goutte d'huile à immersion sur le frottis et observer au microscope à au grossissement ($\times 100$).

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

Résumé

Six échantillons différents du lait cru ont été collectés à partir de diverses régions, d'après les résultats d'analyses microbiologiques, trois échantillons du lait cru ont été retenus afin de les transformer en lben et au fromage. Un suivi des paramètres physico-chimiques (pH, acidité titrable) et des paramètres microbiologiques (flore totale, flore lactique et la flore pathogène qui est *S.aureus*) dans le but d'étudier l'évolution de ces derniers durant un stockage de 22 jours à 6°C.

Les résultats obtenus suite aux analyses physico-chimiques ainsi que les analyses microbiologiques effectuées ont révélé que les échantillons du lait cru de départ sont de mauvaise qualité hygiénique.

Les résultats des analyses microbiologiques du lben et du fromage au cours de leur conservation ont montré qu'il a eu une diminution de la flore totale et la flore lactique. Par contre la flore pathogène (*S.aureus*) une légère diminution a été remarquée.

En résumé, la durée de conservation des produits laitiers artisanaux dépend de la contamination initiale du lait cru.

Mots clés : lben, fromage, lait cru, , suivi

ABSTRACT

Six different samples of the raw milk were collected from various regions, according to the results of microbiological analyzes, three raw milk samples were selected for processing into lben and cheese. A monitoring of the physicochemical parameters (pH, titratable acidity) and microbiological parameters (total flora, lactic flora and pathogenic flora which is *S.aureus*) in order to study the evolution of these during a storage of 22 days at 6 ° C.

The results obtained from the physicochemical analyzes as well as the microbiological analyzes carried out revealed that the samples of the raw milk of departure are of poor hygienic quality.

The results of microbiological analyze of lben and cheese during their conservation showed that there was a decrease in the total flora and lactic flora. In contrast to the pathogenic flora (*S. aureus*) a slight decrease was noted.

In summary, the shelf life of craft dairy products depends on the initial contamination of raw milk.

Key words: lben, cheese, raw milk, monitoring.