

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Ghardaïa



Faculté des Sciences de la Nature et de Vie et Sciences de la Terre

Département de Biologie

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

En : Science biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Présenté par : **BENCHAA Abir & DJOUDI Rekia**

Thème :

**ETUDE DE LA QUALITE HYGIENIQUE ET
MICROBIOLOGIQUE D'UN FROMAGE
TRADITIONNEL ALGERIEN " *KEMARIA* "**

Soutenu publiquement, le 23 / 06 / 2019, devant le jury composé de :

M. Bouras N.	Professeur	Univ-Ghardaïa	Président
M. Mahamedi A. E.	Maitre Assistant A	Univ-Ghardaïa	Directeur du mémoire
M. Dif G.	Maitre Assistant A	Univ-Ghardaïa	Examineur

Année universitaire : 2018-2019

Dédicace

Avec l'aide d'Allah, j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie

À :

La femme la plus patiente, ma très chère MAMAN, source d'affectation de courage et d'inspiration qui a autant sacrifié pour me voir atteindre ce jour.

Mon idéal, l'être le plus généreux, mon cher PAPA, source de respect, en témoignage de ma profonde reconnaissance pour tout l'effort et le soutien incessant qui m'a toujours apporté, qui ont été toujours à mes côtés pour terminer mes études

Merci beaucoup PAPA et MAMAN, je vous aime beaucoup.

Mes chères sœurs : Soumia, Hadjer et Zinab, pour leurs encouragements permanents et leur soutien moral.

Mes chers frères : Youcef, Djaafar, Sohiib et à mon cher frère Oussama et sa femme.

Mes nièces et mes neveux les petits adorés: Iyad, Mouhsin, Mohamed et Tahaa.

Mes très chères grands-mères

Toutes mes tantes et mes oncles.

Toutes mes cousines et mes cousins.

A tous les étudiants de ma promotion;

Enfin à toutes les personnes qui comptent pour moi, intervenues dans ma vie à un moment ou à un autre et qui m'ont accompagné et soutenu.

Abir



Dédicace

Je dédie ce travail à :

L'être le plus cher à mon cœur, à celle qui m'a guidée pour faire mes premiers pas et qui m'a appris mon premier mot, à celle qui fut toujours à mes côtés, qui a illuminé mes nuits sombres et a ensoleillé mes jours avec son inépuisable affection, à ma mère à qui je vous tous mes sentiments que son âme repose en paix.

A mon père, A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, A qui m'a donné les moyens d'aller aussi loin, Ce travail est le fruit de tes sacrifices pour me voir réussir, que dieu te garde dans son vaste paradis.

tous mes frères : Youcef, Ishak, Hossin, Abed elkader.

A mes sœurs : Sara, fatima et halima sans oublié sa fille Alaa et ces fils Sid Aali et Mouhamed Akil qui j'aime beaucoup.

Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagné durant mon chemin d'études supérieures, mes aimables amis, collègues d'étude,

À mon amis préféré :

Ibtisam, Hizaria, Keltoum, Rima, Merim, Djehad, Halima, Sakina, Asma.....

*A tous la famille Djoudi et toutes qui connaît Rekia
Et enfin à toutes les personnes qui comptent pour moi, intervenues dans ma vie à un moment ou à un autre et qui m'ont accompagné et soutenu. Et Tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer*

Rekia



Remerciements

On remercie, tout d'abord, Dieu tout puissant, pour avoir guidé nos pas vers un avenir incha'Allah prometteur, où le travail, la persévérance et la quête du savoir seront notre devise.

Nous tenons à remercier nos parents respectifs qui ne lésinent point sur les moyens pour nous soutenir dans nos études.

*Nos sincères remerciements s'adressent à notre encadreur Mr **MAHAMED I. E.** Maître Assistant à l'Université de Ghardaïa pour son soutien, ses encouragements et la qualité de ses conseils apportés à ce mémoire, ainsi qu'une grande compétence et beaucoup de gentillesse.*

*Nous tenons à exprimer toute notre gratitude à Mme **MOULAY ABDALLAH. K.** responsable au sein du Laboratoire de CACQE à El Atteuf, Ghardaïa pour sa gentillesse et ses bonnes explications et sa collaboration avec nous dans l'accomplissement de ce modeste travail.*

Nos remerciements les plus sincères vont s'adresser à tous les membres de jury qui nous avons fait l'honneur de juger notre travail :

*Mr **BOURASS N.** Professeur à l'Université de Ghardaïa d'avoir accepté de présider le jury.*

*Mr **DIFF G.** Maître Assistant à l'Université de Ghardaïa d'avoir accepté d'examiner le travail.*

Qu'il nous soit permis de remercier également à :

*M^{lle} **SABROU I.** notre Co-Encadreuse, pour ses précieuses aides, sa disponibilité durant la réalisation de ce travail.*

*Mme **ZOUAOUI S.** Maître Assistant à Ecole Préparatoire en Sciences de la Nature et de la Vie, Mostaganem pour sa contribution et son aide.*

Nous remercions aussi l'ensemble du personnel travaillant au laboratoire CACQE à El Atteuf, Ghardaïa, chacun par son nom, ainsi les responsables du laboratoire de microbiologie de l'institut national Spécialisé en Formation Professionnelle Mohamed Cherif Messaâdia, Nous vous remercions tous d'avoir enrichis nos connaissances et de nous avoir guidés durant toute la période de stage.

Enfin, nous disons merci à toutes les personnes qui ont aidé de près ou de loin dans la réalisation de ce mémoire

Sincèrement merci ...

Résumé

A travers 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 le fromage «*Kemaria*», un produit artisanal connu depuis longtemps dans la zone sud du pays précisément dans la wilaya de Ghardaïa. L'étude s'est intéressé à étudier ce type de fromage à travers des analyses physico-chimiques et microbiologiques, dont, huit échantillons de *Kemaria* à base du lait de vache collectés à partir de différentes localités de la wilaya de Ghardaïa ont été étudiés. Les analyses physico-chimiques montrent que *Kemaria* est caractérisée par un taux d'extrait secs d'environ 47.6 % dont 14.7% de matière grasse, un pH doux et une faible acidité, Ces résultats ont permis de classer le fromage *Kemaria* comme étant un fromage frais à pâte demi-molle et mi-gras. Alors que, sa qualité microbiologique était généralement acceptable et conforme aux normes fixées par l'état algérien avec absence totale des *Staphylococcus* et *Salmonella*, cependant, une contamination par des *E. coli* dans 3 échantillons a été enregistrée, mais avec une faible charge. Quant à l'identification et caractérisation des bactéries lactiques, 15 isolats appartenant à trois genres ont été obtenus dont, 40% étaient des *En. faecium*, 33% autant que *L. lactis* et 27% de *Ln. mesenteroides*. L'étude de l'activité protéolytique a permis de montrer que la plupart des souches sont dotées d'un bon pouvoir protéasique, alors qu'aucune des souches testées présentait une activité lipolytique. Les trois espèces ont été testées pour leur effet antagonisme à l'encontre d'*E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 et *Salmonella* sp. , où l'interaction des souches lactiques avec les bactéries pathogènes indicatrices a révélé des résultats positifs pour toutes les souches.

Mots clés : *Kemaria*, analyses physico-chimiques, qualité microbiologique, bactéries lactiques, protéolyse, antagonisme.

عبر عدة مناطق من الجزائر، تنتج عدة أنواع من الجبن عبر معالجة الحليب الطازج للماعز، للأبقار أو الأغنام بالطرق التقليدية. من بين منتجات الألبان التقليدية، عرف جبن كمارية منذ فترة طويلة في جنوب البلاد، وخاصة في ولاية غرداية. اهتمت الدراسة بهذا النوع من الجبن عبر التحليلات الفيزيائية الكيميائية والميكروبيولوجية، حيث تم جمع ثماني عينات من كمارية، من مناطق مختلفة من ولاية غرداية حيث أظهرت نتائج التحليلات الفيزيائية والكيميائية أن معدل المستخرج الجاف في كمارية يبلغ حوالي 47.6 ٪، الدهون بنسبة 14.7 ٪، وكذا pH معتدل مع نسبة حموضة منخفضة، مما جعل من الممكن تصنيف الجبن كمارية في فئة الجبن الطري والدهني. تعتبر الجودة الميكروبيولوجية للكمارية مقبولة بشكل عام ووفقاً لمعايير الدولة الجزائرية، حيث لوحظ غياب تام للمكورات العنقودية الذهبية والسلمونيلا، لكن مع وجود تلوث بسيط بالإشريكية القولونية في 3 عينات. أما فيما يخص دراسة البكتيريا اللبنية، تم الحصول على 15 عزلة تنتمي الى 3 أجناس مختلفة، حيث، 40 ٪ منها تنتمي إلى *En. faecium*، 33 ٪ عبارة عن *L. lactis* و 27 ٪ من النوع *Ln. mesenteroides*. بعد دراسة نشاط التحلل البروتيني، معظم السلالات أظهرت نشاط بروتيني جيد، بينما لم تمتلك أي من هذه السلالات نشاطاً لتحليل الدهون. تم اختبار الأنواع الثلاثة بحثاً عن تأثيرات تنافسية نحو *E. coli* ATCC 25922، *S. aureus* ATCC 25923 و *Salmonella sp.* حيث أعطى تفاعل هذه الأخيرة ضد البكتيريا المسببة للأمراض نتائج إيجابية بالنسبة لجميع السلالات المختبرة.

الكلمات المفتاحية: كمارية، التحليل الفيزيائي الكيميائي، جودة ميكروبيولوجية، بكتيريا لبنية، تحليل البروتينات، تأثيرات تنافسية.

Abstract

Through the Algerian territory, several types of cheese are made from the transformation of goat's, cow's or sheep's raw milk using traditional ways. Among the traditional dairy preparations the "*Kemria*" cheese has long been known in the southern part of the country precisely in the regions of Ghardaïa. The study was interested in studying this type of cheese starting with physico-chemical and then microbiological analysis. Eight samples of *Kemaria* cheese were studied; they were collected from different localities in Ghardaïa province. Physico-chemical analyses showed that our *Kemaria* is characterized by a dry extract level of about 47.6% of which 14.7% fat, a mild pH and low acidity, These results allowed to classify *kemaria* cheese as a fresh cheese half-soft and semi-fat. Microbiological quality of *Kemaria* was generally acceptable and in accordance with the stated standards of Algerian legislation, however, a total absence of *Staphylococcus* and *Salmonella* was noted, nevertheless, contamination is noted by the presence of *E. coli* in 3 samples, but with a low amount. Isolation and characterisation of lactic bacteria showed 15 obtained strains from 3 genera, distributed as 40% *En. faecium*, 33% of *L. lactis* and 27% belonging to *Ln. mesenteroides*. After the study of proteolytic activity, it was possible to reconstruct that most strains have good protein activity, while none of these strains have lipolytic activity. All three species were tested for their antagonistic effect against *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 and *Salmonella* sp., where, the interaction of our lactic strains and pathogenic bacteria yielded positive results for all strains.

Key words: *Kemaria*, physico-chemical analysis, microbiological quality, lactic acid bacteria, proteolysis, antagonistic effect.

Liste des tableaux

Tableau I. Composition moyenne du lait de différentes espèces animales _____	2
Tableau II. Constantes physiques usuelles du lait de vache _____	3
Tableau III. Germes contaminant le lait cru _____	5
Tableau IV. Valeurs moyennes des paramètres chimiques (g/100g) des principaux produits laitiers traditionnels en Algérie. _____	9
Tableau V. Principaux microorganismes caractéristiques de quelques produits laitiers traditionnels fermentés. _____	10
Tableau VI. Différences caractéristiques entre quelques fromages traditionnels algériens. _____	15
Tableau VII. Tableau récapitulatif montrant les résultats du dénombrement par la méthode du NPP pour 3 tubes, obtenus à la recherche d'E. coli. _____	37
Tableau VIII. Tableau récapitulatif des résultats de dénombrement de la flore lactique sur le milieu MRS. _____	39
Tableau IX. Récapitulation des tests clés de l'identification des genres présents parmi les isolats lactiques. _____	46
Tableau X. Profil fermentaire des isolats par les galeries API 50 CHL. _____	48
Tableau XI. Résultats des activités protéolytique et lipolytique pour l'ensemble des souches. _____	50
Tableau XII. Résultats de l'antagonisme de quelques souches lactiques par la méthode de spot. _____	52
Tableau XIII. Résultats de l'antagonisme de quelques souches lactiques par la méthode de diffusion sur agar. _____	53

Liste des figures

Figure 1. Schéma simplifié montrant les différentes étapes de préparation des produits laitiers traditionnels Algériens	8
Figure 2. Diagramme de fabrication de la kemaria	14
Figure 3. Principales voies fermentaires des hexoses chez LAB	17
Figure 4. Arbre phylogénétique des bactéries lactiques	18
Figure 5. Histogramme représente les valeurs de pH des différents échantillons de Kemaria.	32
Figure 6. Histogramme représente les valeurs de l'acidité titrable des huit échantillons de la Kemaria.	33
Figure 7. Histogramme représentant les valeurs de l'EST des huit échantillons de Kemaria.	33
Figure 8. Histogrammes des teneurs en matière grasse (MG) des huit échantillons de Kemaria	34
Figure 9. Représentation des valeurs du dosage des protéines totales de la Kemaria exprimés en g/100g de produit examiné.	35
Figure 10. Test présomptif dans le bouillon LST à simple et à double concentration.	36
Figure 11. Test de conformation de la présence d'E. coli montrant la présence de l'indole traduit par l'anneau rouge apparu	37
Figure 12. Culture sélectif sur gélose Bismuth Sulfite.	38
Figure 13. Isolement sélectif des S. aureus par culture sur la gélose Baird Parker	38
Figure 14. Test de l'ADNase sur la gélose ADN.	39
Figure 15. Dénombrement des bactéries lactique sur milieu MRS.	40
Figure 16. Aspect des colonies des bactéries lactiques sur milieu solide après incubation.	41
Figure 17. Photos montrant la croissance bactérienne dans le milieu MRS liquide, sous forme	42
Figure 18. Observation microscopique après coloration de Gram (Grossissement : X1000).	42
Figure 19. Distribution des genres de bactéries lactiques isolées à partir de différents échantillons de la Kamaria.	43
Figure 20. Détermination du type fermentaire.	43
Figure 21. Test du lait de Sherman à 0.3 %.	44
Figure 22. Croissance d'Enterococcus sur bouillons hypersalés et à pH 9,6.	45
Figure 23. Résultat du profil fermentaire de l'espèce Enterococcus faecium sur API 50 CHL après 48 h d'incubation.	47
Figure 24. Activité protéolytique des souches sur PCA à concentration de 2% de lait écrémé.	49
Figure 25. Activité lipolytique des souches A, B, C, D, E, F, , H et I sur MRS tamponné additionné de Tween 80.	49
Figure 26. Interaction des souches lactique avec les bactéries indicatrices par la méthode de spot.	51
Figure 27. Interaction des souches lactique avec les bactéries indicatrices par la méthode de diffusion sur agar.	52

Liste des abréviations

% : pour cent.

°C : degré Celsius

°D : degré dornic

Abs : Absence

ADP : adénosine diphosphate.

AFNOR : Association Française de la Normalisation

AOAC : Association of Official Analytical Chemists

ATCC: American type culture collection

ATP: Adénosine Tri-Phosphate

BL: bactérie lactique

CO₂ : Dioxyde de carbone

d : densité

Do : densité optique

E. coli : *Echerichia coli*

Ent. : *Enterococcus*

EST : extrais sec total

F₆PPK : Fructose-6-phosphoketolase .

FAO: Food and Agriculture Organization

g/l : gramme par litre .

g: gramme

G+C: le ratio guanine + cytosine.

h : Heure

H₂O₂ : eau oxygéné

H₂SO₄: acide sulfurique

ISO :Internationale Organization for standardization

J.O.R.A : Journal Officiel de la République Algérienne.

L. : *Lactococcus*

L: Litre. **LAB** : Lactic Acid Bacteria

Lb. : *Lactobacillus*

LST : Lauryl Sulfate Tryptose

Ln. : *Leuconostoc*

mg : milligramme.

MG : matière grasse

MGES : Pourcentage de la matière grasse dans l'extrait sec.

min : minutes

mL : millilitre

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

MS: Matière sèche.

N : normalité

NaCl : Chloride de Sodium

NAD⁺/NADH, H⁺ : Couple oxydant/réducteur du nicotinamide adénine dinucléotide.

NaOH : Hydroxyde de Sodium

Nm : nanomètre

Npp : nombre plus probable

O₂ : oxygène

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

Pd.: *Pediococcus*.

pH : Potentiel Hydrogène

Pi : phosphate inorganique.

S. : *Staphylococcus*

sp. : espèce

Sher : test de Sherman

subsp. : sous-espèce

TEFD : Teneur en eau dans le fromage dégraissé

Thermo : thermorésistance

UFC: unité formant de colonies

v/v : volume-volume

β: Bêta

μm : micromètre

Table des matières

Introduction	1
CHAPITRE I : Synthèse bibliographique	
I. Lait	2
I.1. Définition du lait	2
I.2. Composition chimique du lait	2
I.3. Propriétés physico-chimiques du lait	3
I.3. Qualité microbiologique du lait	3
I.3.1. Flore originelle ou indigène	4
I.3.2. La flore de contaminations	4
II. le fromage	5
II.1. Historique	5
II.2. Définition du fromage	5
II.3. Technologie fromagère	6
II.3.1. Coagulation	6
II.3.2. Egouttage	6
II.3.3. Affinage	7
III. Produits laitiers traditionnels	7
III.1. Généralités	7
III.2. Caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques des produits laitiers traditionnels	8
III.2.1. Caractéristiques physico-chimiques	9
III.2.2. Caractéristiques microbiologiques	9
III.2.3. Principaux produits laitiers traditionnels d'Algérie	11
IV. Les bactéries lactiques	16
IV.1. Généralités sur les bactéries lactiques	16
IV.2. Propriétés caractérisant le groupe des bactéries lactiques	16
IV.3. Habitat et origine des bactéries lactiques	17
IV.4. Taxonomie des bactéries lactiques	18
IV.5. Principaux genres des bactéries lactiques	18
<input type="checkbox"/> <i>Lactobacillus</i>	18
<input type="checkbox"/> <i>Lactococcus</i>	19
<input type="checkbox"/> <i>Leuconostoc</i>	19
<input type="checkbox"/> <i>Streptococcus</i>	19
<input type="checkbox"/> <i>Enterococcus</i>	20
<input type="checkbox"/> <i>Pediococcus</i>	20
<input type="checkbox"/> <i>Bifidobacterium</i>	20

IV.6. Intérêts des bactéries lactiques	21
--	----

CHAPITRE II : Matériel et méthodes

1. Echantillonnage	22
2. Analyses physico-chimiques	22
2.1. Mesure de pH	22
2.2. Mesure de l'acidité titrable	22
2.3. Dosage la matière sèche	23
2.4. Dosage la matière grasse Méthode de VANGULIK	23
2.5. Dosage des protéines par la méthode de LOWRY	23
2.6. Classification du fromage <i>Kemaria</i> d'après codex alimentaire	24
2.6.1. Rapport matière grasse/matière sèche (MG/ES)	24
2.6.2. Détermination de la teneur en eau dans le fromage dégraissé	25
3. Analyses de la qualité hygiénique	25
3.1. Préparation de la solution mère	25
3.2. Préparation des dilutions décimales	25
3.3. La recherche d' <i>E. coli</i>	25
3.4. Recherche de <i>Staphylococcus</i>	26
3.5. Recherche de <i>Salmonella</i>	26
3.6. Dénombrement de la flore lactique sur MRS	27
4. Identification et caractérisation des bactéries lactiques	27
4.1. Isolement et purification	27
4.2. Caractérisation préliminaire des isolats lactiques	27
4.2.1. Étude morphologiques	27
4.2.2. Test de la catalase	28
4.3. Conservation des isolats	28
4.4. Caractérisation physiologique et biochimique des isolats lactiques	28
4.4.1. Caractérisation physiologique	28
4.4.2. Caractérisation biochimique par galeries API 50 CHL (Profil fermentaire des sucres)	30
5. Caractérisation technologique des souches lactiques	30
5.1. Pouvoir protéolytique	30
5.2. Activité lipolytique	30
6. Pouvoir antagonique	31
6.1. Méthode de spot	31
6.2. Méthode de diffusion sur agar	31

CHAPITRE III : Résultats et discussion

1. Analyses physico-chimiques	32
1.1. pH	32

1.2. Acidité titrable	32
1.3. Extrait sec total	33
1.4. Teneur en matière grasse	34
1.5. Dosage des protéines par la méthode de Lowry	34
1.6. Classification du fromage <i>Kemaria</i> d'après codex alimentaire	35
2. Analyses de la qualité hygiénique	36
2.1. Recherche et Dénombrement <i>d'Escherichia coli.</i>	36
2.2. Recherche des Salmonelles	38
2.3. Recherche de <i>Staphylococcus aureus</i>	38
2.4. Dénombrement de la flore lactique sur MRS	39
3. Identification et caractérisation des bactéries lactiques	40
3.1. Isolement et purification	40
3.2. Morphologie	40
3.2.1. Aspect macroscopique	40
3.2.2. Aspect microscopique	42
3.2.3. Critères biochimiques et physiologiques	43
3.2.4. Identification par galerie Api 50 CHL	47
3.4. Activités protéolytique et lipolytique	49
4. L'activité antagoniste	50
4.1. La méthode de spot (Fleming <i>et al.</i> , 1975)	51
4.2. La méthode de diffusion en puits.	52
Discussion	54
Conclusion et perspectives	61
Références bibliographiques	63
Annexes	

Introduction

Introduction

En Algérie, comme dans différents pays de l'Afrique du nord et du monde, le lait occupe une place prépondérante et fondamentale dans la ration alimentaire en raison de sa richesse en protéines, lipides, glucides et en éléments biologiques comme les enzymes, les vitamines et les minéraux (Ouadghiri, 2009). Cet aliment complet et hautement nutritif, destiné à l'alimentation du jeune naissant jusqu'aux adultes, est facilement périssable et difficile à conserver, où sa transformation en produits laitiers qui lui permet une conservation de longue durée (Bencharif, 2001). Les femmes algériennes, comme dans toutes les cultures pastorales, ont toujours été les principaux protagonistes auteurs de la transformation du lait (Lahsaoui, 2009). Dont, la plus grande variété de produits laitiers fermentés est préparée traditionnellement (Yantyati et Andi, 2014), et sont généralement conçues comme des "fromages artisanaux" où le processus de fermentation se fait d'une manière spontanée et incontrôlée.

Parmi les produits laitiers couramment consommés en Algérie, le fromage traditionnel "*Kemaria*" très populaire dans les régions de sud algérien, notamment dans la wilaya de Ghardaïa. Il est fabriqué à partir du lait cru de chèvre, de vache mais peut-être également obtenu à partir du lait de chamelle près mélange avec du lait de vache ou de lait de chèvre non pasteurisé. Néanmoins la fabrication de la *Kemaria* se base sur une coagulation enzymatique par la présure suivant un processus non contrôlé impliquant divers types de micro-organismes pourront être pathogènes ou bénéfiques. Sachant que, le fromage est consommé par la population algérienne depuis de très longtemps sans aucun mal enregistré.

A la lumière de cette optique et en vue que ces types de produits laitiers traditionnels sont peu connus et peu étudiés en Algérie, nous nous intéressons à étudier les caractéristiques physico-chimiques, hygiéniques et microbiologiques du fromage traditionnel algérien *Kemaria*. Dont, divers échantillons ont été prélevés à partir de différentes régions de la wilaya de Ghardaïa à savoir : Mansoura, El Atteuf et Daïa Ben Dahoua.

Le présent travail se compose de trois parties ; une première bibliographique consiste à donner une vue générale sur le lait et les produits laitiers et ainsi à rappeler des principales caractéristiques des bactéries lactiques. La deuxième partie présente la méthodologie du travail. Elle traite les analyses physicochimique et microbiologique réalisées, les techniques d'identification des bactéries lactiques, l'évaluation de leurs aptitudes technologiques. La troisième partie regroupe les principaux résultats obtenus et leurs discussions, tout en proposant des perspectives afin de motiver la recherche scientifique.

CHAPITRE I :

Synthèse

bibliographique

I. Lait

I.1. Définition du lait

Le lait ou "*Leben*" en arabe classique ou "*Halib*" en arabe dialectal universellement est le lait de vache (Khiati, 2007). Selon le Codex Alimentaires en 1999 : « la dénomination « lait » est réservée exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale, obtenu par une ou plusieurs traites sans aucune addition ou soustraction sans rien y ajouter ou en soustraire, destiné à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur » (Boudier et Luquet, 1981). Alors qu'En 1908 au cours du congrès international de la répression des fraudes à Genève Le lait était défini comme étant « Le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Qui doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir du colostrum » (Pougheon et Goursaud, 2001).

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 in Djouhri et Madani, 2015). Il considéré comme un aliment nutritif pour les êtres humains, indispensable pour le nouveau-né, comme il s'avère très bénéfique pour l'adulte. Il constitue un milieu propice pour la croissance de nombreux microorganismes, en particulier les bactéries pathogènes (Chye *et al.*, 2004).

I.2. Composition chimique du lait

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). Sa composition générale est varié en fonction d'une multiplicité de facteurs : race animale, alimentation et état de santé de l'animal, période de lactation, ainsi qu'au cours de la traite. Il reste que la composition exacte d'un échantillon de lait ne peut s'obtenir que par analyse (Roudaut et Lefrancq, 2005). Le lait contient également des anticorps, des hormones et peut parfois contenir des résidus d'antibiotiques (Vilain, 2010).

Tableau I. Composition moyenne du lait de différents animaux (Amiot *et al*, 2002).

Animaux	Eau (%)	Matière grasse(%)	Protéines (%)	Glucides (%)	Minéraux (%)
Vache	87.5	3 – 5	3.5	5	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

I.3. Propriétés physico-chimiques du lait

La composition du lait est caractérisée par une grande complexité dans la nature et la forme de ses composants, de point de vue physique, le lait présente une hétérogénéité, puisque certains composants sont dominants de point de vue quantitatif. Les propriétés physiques comme la densité absolue, la viscosité, la tension superficielle et la chaleur spécifique dépendent de l'ensemble des constituants (Mathieu, 1998) (tableau I).

Les principales propriétés physico-chimiques utilisées dans l'industrie laitière sont la masse volumique et la densité, le point de congélation, le point d'ébullition et l'acidité.

Tableau II. Constantes physiques usuelles du lait de vache (FAO ,1998).

Constituions	Valeurs
Energie (Kcal/Litre)	587-876
pH (20 °C)	6,5 à 6, 7
Acidité titrable	15 à 18 °D
Densité	1,028 à 1,036
Point de congélation	-0.51 à -0,55 °C

I.3. Qualité microbiologique du lait

Le lait est un aliment dont la durée de vie est très limitée. En effet, son pH voisin de la neutralité, le rend très facilement altérable par les microorganismes et les enzymes, sa richesse et sa fragilité font du lait un milieu idéal aux nombreux microorganismes comme les moisissures, les levures et les bactéries qui se reproduisent rapidement (Gosta, 1995).

L'appréciation de la qualité bactériologique du lait cru consiste en la recherche des germes pathogènes, des germes utiles et des germes nuisible à la conservation. Ces micro-organismes peuvent proliférer dans le lait qui constitue un excellent milieu de culture (Jeantet *et al.*, 2008).

On répartit les microorganismes du lait, selon leur importance, en deux grandes classes : La flore indigène ou originelle et la flore contaminant. Cette dernière est subdivisée en deux sous classe, à savoir : la flore originelle et la flore pathogène

I.3.1. Flore originelle

La flore originelle des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis, il est protégé par des substances inhibitrices appelées lacténines ont une activité limitée dans le temps, qui est autour d'une heure après la traite (CUQ, 2007).

Le lait contient relativement peu de microorganisme quand il est sécrété partir de la mamelle d'un animal en bonne santé. Il devrait contenir moins de 5000 UFC. La flore naturelle du lait cru est un facteur essentiel particulièrement à ces propriétés organoleptiques (Fotou *et al.*, 2011).

I.3.2. flore de contaminations

La flore de contamination est l'ensemble des microorganismes contaminant le lait, de la récolte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération, qui causera des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène dangereuse du point de vue sanitaire (Vignola, 2002). Cette flore est par divers microorganismes peuvent provenir de l'environnement: Entérobactéries, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, Microcoques, Corynébactéries, *Bacillus*, etc. Par l'intermédiaire du matériel de traite et de stockage du lait, par le sol, l'herbe ou la litière, des contaminations d'origine fécale peuvent entraîner la présence de *Clostridium*, d'entérobactéries coliformes et éventuellement, d'entérobactéries pathogènes : *Salmonella*, *Yersinia*. Ceci explique l'importance d'un contrôle rigoureux du lait (Leyral et Vierling, 2007).

Tableau III. Germes contaminant le lait cru (Jakob *et al.*, 2009).

Source de contamination	
Germes à Gram positif	Germes sporulés anaérobies (clostridies) Entérocoques, Staphylocoques Microcoques, Bactéries propioniques (propionibacterium) Bactéries lactiques, Bactéries corynéoformes
Germes à Gram négatif	Colibactéries (<i>E.coli</i>), Entérobactéries Pseudomonas, Alcaligenes

II. fromage

II.1. Historique

La découverte du fromage fut probablement le fait du hasard. On sait grâce à des découvertes archéologiques qu'il se fabrique du fromage depuis les origines de l'élevage, il y a environ huit mille ans (Bendimerad, 2013).

Il est l'un des plus anciens aliments manufactures. Plus d'un millier de variétés de fromages sont répertoriées dans le monde. Cette étonnante diversité est la conséquence de multiples facteurs, notamment le type de lait utilisé (de vache, de buffle, de chèvre, ou mouton), le procédé de fabrication et les pratiques et les préférences locales (Khaled, 2012). Le fromage frais est le premier à avoir été fabriqué par simple caillage du lait (Mami, 2013). Techniquement, c'est celui dont la réalisation est la plus simple et elle ne comporte que deux étapes : le caillage et l'égouttage (Lelievre, 2012).

II.2. Définition du fromage

Le fromage constitue un élément important dans l'alimentation humaine. Ses taux élevés en lactose, lipides et en protéines en font de lui un aliment nutritif, riche en énergie (Walther *et al.*, 2008).

Selon le Codex alimentaires, (norme FAO/OMS A 6), le fromage est le produit solide ou semi-solide, frais ou affiné, dont le ratio lactosérum/caséine n'est pas supérieur à celui du lait (Belbeldi, 2013). Obtenus à partir de matière d'origine exclusivement laitière : le lait partiellement ou totalement écrémé, crème, matière grasse, utilisées seul ou en mélange et

coagulées en tout ou en partie avant égouttage ou après élimination partielle de la partie aqueuse. Ils varient par la nature du lait, par la teneur en matière grasse et par leur mode de préparation (Achezegag *et al.* 2008). Le fromage fut à son origine, un mode de conservation du lait ou du moins des éléments susceptibles d'être conservés, au prix de fermentations que l'Homme a appris à diriger (Eck et Gillis, 2006).

II.3. Technologie fromagère

La transformation du lait en fromage comporte trois étapes principales, la coagulation, l'égouttage et l'affinage. La qualité de lait de fromage frais est fonction de son aptitude à donner un bon fromage, dans des conditions de travail normal, avec un rendement satisfaisant. Elle dépend d'un certain nombre de caractéristiques du produit tels que sa composition chimiques, sa richesse en caséines, sa charge microbienne et la nature de sa microflore, son aptitude au développement des BL. Elle dépend aussi de son comportement vis à vis de la présure (Abakar, 2012).

II.3.1. Coagulation

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

- Par voie enzymatique à l'aide d'enzymes coagulantes, en particulier la présure ;
- Par voie fermentaire à l'aide de bactéries productrices d'acide lactique (bactéries lactiques contaminant à l'état naturel le lait ou apportées sous forme de levains) ;
- Par voie mixte obtenue lorsque le lait présente au moment de la coagulation une acidité moyenne (pH 6,5 à 5,5) et qu'une dose de présure intermédiaire est utilisée (10 à 25 ml pour 100 litres de lait en général). Cet éventail de solutions est une des origines de la diversité fromagère ;

II.3.2. Egouttage

L'égouttage est une étape de concentration de certains constituants du gel par un phénomène physique de rétraction (synérèse) et l'évacuation passive du lactosérum liée à la porosité et la perméabilité du gel sous l'effet conjugué de la présure, de l'acidité et de la

température, les liaisons moléculaires qui se créent entre les caséines et les minéraux provoquent une contraction du réseau qui expulse l'eau et les solutés tels : les protéines sériques, les minéraux solubles, le lactose et les composés azotés non protéiques (Khaled, 2012). Le lactosérum est constitué par la plus grande partie des éléments solubles du lait (lactose, sels minéraux) et quelques fractions insolubles mineures (azotes, matière grasses) sont en effet expulsées du gel conjointement à l'eau (Benderouiche, 2009). Il sert à éliminer le lactosérum. Il peut être lent si l'on veut obtenir des pâtes molles, et accéléré par divers procédés comme l'étirement, le pétrissage, le découpage, le brassage ou le chauffage (Riahi, 2006).

II.3.3. Affinage

L'affinage est le procédé d'affinage qui confère aux fromages leurs caractéristiques distinctives de saveur, de texture et d'arôme. Ce procédé délicat nécessite un contrôle très précis du niveau d'humidité, de la température et des niveaux d'oxygène de façon à amener le fromage à maturité (Oumai, 2014). Au cours de l'affinage, il y a dégradation plus ou moins poussée de la caséine mais aussi des matières grasses. L'oxygène, l'humidité et la température d'entreposage jouent un rôle très important (Guiraud, 2012).

III. Produits laitiers traditionnels

III.1. Généralités

En Algérie, les laits fermentés et les fromages sont fabriqués traditionnellement le plus souvent par les femmes à la maison et servent à l'autoconsommation ; le surplus pouvant être vendu. Plusieurs produits traditionnels sont en voie de disparition pour différentes raisons dont le non disponibilité fourragère, l'exode rural et le changement des habitudes alimentaires (Bendimerad, 2013). La consommation des produits laitiers est également associée à des effets bénéfiques sur la santé en plus de leurs valeurs nutritionnelles (Bouadjaib, 2013).

Plusieurs variétés de fromage à partir du lait de vache, de chèvre et de brebis sont fabriquées, à travers le monde, dans des fermes suivant des techniques traditionnelles, sans addition intentionnelle de levains, et sont généralement conçues comme fromages artisanaux (Ouadghiri, 2009).

En Algérie, les fromages traditionnels sont peu nombreux, non entièrement recensés et aussi peu étudiés (Saoudi, 2012) ; Les produits laitiers traditionnels importants qui ont la

signification commerciale sont : *Lben*, *Klila*, *Bouhezza*, *Jben*, *Rayeb*, *Dhan* et *Zebda*, *Takammarit* et autres (Abid, 2015).

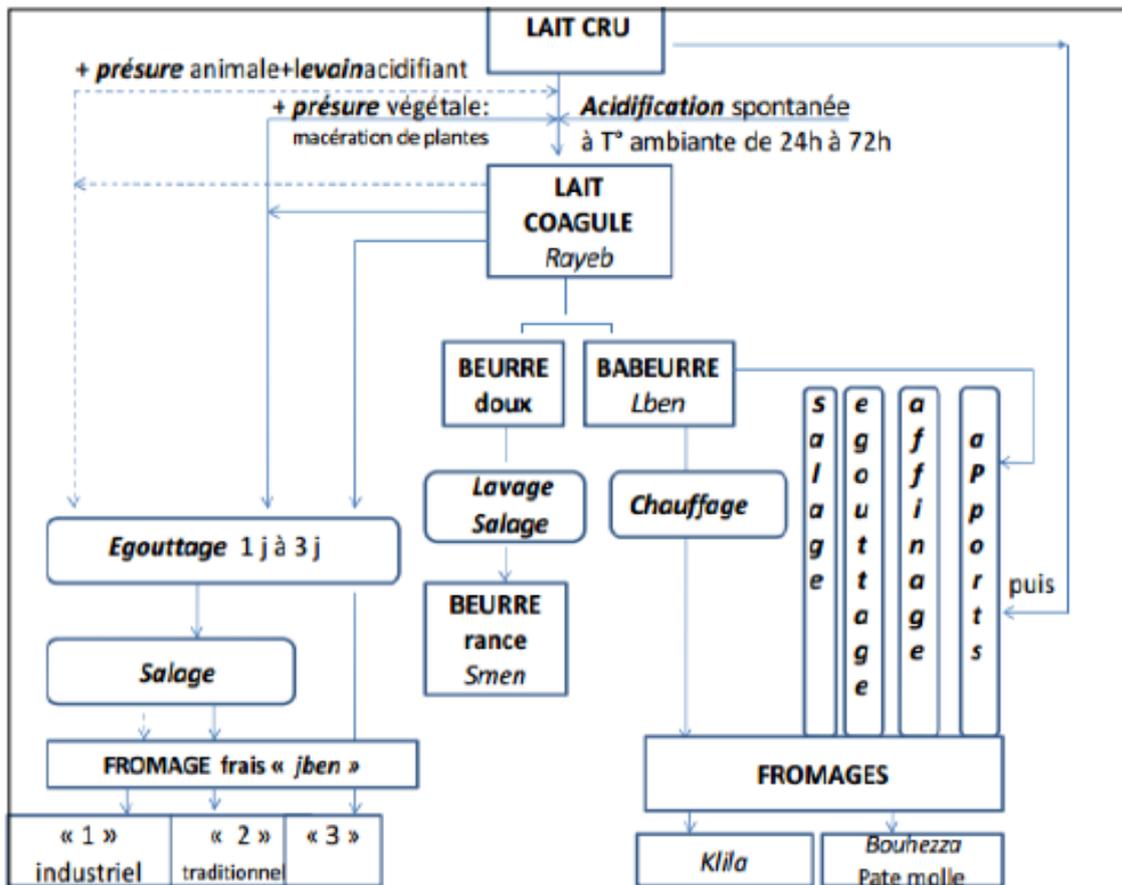


Figure 1. Schéma simplifié montrant les différentes étapes de préparation des produits laitiers traditionnels Algériens (Bendimerad, 2013).

III.2. Caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques des produits laitiers traditionnels

Les produits dérivés issus d'une fermentation lactique traditionnelle connaissent depuis quelques années un développement considérable grâce, à l'intérêt que trouvent les consommateurs sur le plan organoleptique, nutritionnel, thérapeutique, voire hygiénique en raison de leur acidité (Lairini *et al.*, 2014). Ces produits laitiers traditionnels ayant des caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques différents.

III.2.1. Caractéristiques physico-chimiques

Le tableau suivant montre quelques paramètres physico-chimiques de quelques produits traditionnels algériens.

Tableau IV. Valeurs moyennes des paramètres chimiques (g/100g) des principaux produits laitiers traditionnels en Algérie.

Paramètres	Valeurs moyennes			
	<i>Lben</i>	<i>Bouhezza</i>	<i>Klila</i>	<i>Smen</i>
Produit Traditionnels				
Teneur en eau	90.8	64.24	12.530	14
PH	4.2	4.0	4.71	-
Acidité (°D)	60	20.8	42.24	-
NaCL	0.08	3.00	0.507	1.5
Lactose	2.14	ND	ND	1.2
matière grasse	0.2	30.2	13.843	81
protéines	1.93	0.08	53.856	3.2
Références	Boubekri <i>et al.</i> , 1984	Aissaoui <i>et al.</i> , 2006	Boubekri et Ohta, 1996	Boubekri <i>et al.</i> , 1984

ND - non déterminé

III.2.2. Caractéristiques microbiologiques

Le lait abondant durant certain moment de l'année, il est difficile de la conserver et facilement périssables, surtout dans les zones à climat très chaud (Claps et Marone, 2011). Il constitue un milieu propice pour la croissance de nombreux micro-organismes en raison de sa teneur élevée en eau, de son pH proche de la neutralité et de sa composition en nutriments (Andriamahery, 2010). ces microorganismes elles peuvent être bénéfiques ou pathogènes

Le tableau V suivant illustre quelques données sur les microorganismes existant dans quelques produits laitiers algériens

Tableau V. Principaux microorganismes caractéristiques de quelques produits laitiers traditionnels fermentés.

	Description	Microorganismes entrés en fermentation comme facteurs de sécurité	Microorganismes Associés	Références
Raïb	Lait cru caillé spontanément. Il peut s'agir d'un produit fini (consommé seul) ou c'est un intermédiaire pour la production de fromages traditionnels ou d'autres laits fermentés. Un produit laitier commun dans tous les pays d'Afrique du Nord mais avec des noms différents.	<i>Lc. Lactis</i> , <i>Lc. lactis</i> ssp. <i>Lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i> <i>Ln. mesenteroides</i> . <i>Ln. mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i> .	<i>E. coli</i> O157, <i>L. monocytogenes</i> , Coagulase positive <i>Staph. aureus</i> , <i>Salmonella</i> spp.	Hamama <i>et al.</i> , 1992; Elotmani <i>et al.</i> , 2002 Benkerroum et Tamime, 2004 ; Mechai et Kirane, 2008; Bendimerad <i>et al.</i> , 2012
Leben ou Lben (le Maghreb), ou Laban khad / kherbahlaban (en Egypte)	Lait fermenté (babeurre) obtenu par le barattage du lait aigri spontanément pour enlever le beurre. Un produit laitier commun dans tous les pays d'Afrique du Nord mais avec des noms différents.	Bactéries lactiques : <i>Lc. lactis</i> subsp <i>lactis</i> , <i>Sc. salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i> , <i>Lb. Delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>Lb. plantarum</i> , Levures: <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Kluyveromyces marxianu</i>	<i>Staph. aureus</i> , <i>Salmonella</i> spp. Pathotypes d' <i>E. coli</i>	Tantaoui-Elaraki et El Marrakchi, 1987; Hamama, 1992; El Marrakchi <i>et al.</i> , 1993; Benkerroum <i>et al.</i> , 2004b Benkerroum et Tamime, 2004
Klila	Cheese curd obtained from a 3- to 4-d-old lben by heating and sieving through a muslin cloth or straw basket to discard whey. Usually consumed in Algeria and Morocco as whey to prevent wastage of too sour lben.	<i>Pediococcus acidilactis</i> <i>Lb. Confusus</i> <i>Ent. faecalis</i> , <i>Ent. Faecium</i>		Abd-El Salam et Benkerroum, 2006
Smen	Beurre rance de pays du Maghreb obtenus à partir de beurre salé brut (8% à 10%) et mûri dans l'obscurité dans un endroit frais anaérobie (13 à 15 °C) des conditions pour une période de 6 à 12 mois.	<i>Staphylococcus aureus</i> à coagulase-négative, <i>Bacillus</i> spp. (pas <i>cereus</i>) Levures, Moisissures	<i>Staph. aureus</i> , <i>Cl. perfringens</i> , <i>Cl. Botulinum</i> <i>Bacillus cereus</i>	Tantaoui Elaraki et El Marrakchi, 1987; EL Marrakchi <i>et al.</i> , 1988; Benkerroum et Tamime, 2004 ; Samet-Bali <i>et al.</i> , 2009
Jben	Le fromage frais obtenu par fermentation spontanée du lait suivie par le drainage de petit-lait. Il est occasionnellement saumuré dans une solution saline saturée (25 à 30 g de sel par 100 ml d'eau) à la température ambiante pendant 2 à 15 d. Largement consommé dans les pays du Maghreb (Maroc, Tunisie, et Algérie).	<i>Lc. Lactis</i> subsp. <i>Lactis</i> et subsp. <i>Lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i> <i>Lb. casei</i> subsp. <i>casei</i> , <i>Ln. Lactis</i>	<i>E. coli</i> O157, <i>L. monocytogenes</i> , <i>Staph. aureus</i> , <i>Y. enterocolitica</i>	Hamama <i>et al.</i> , 1992; El Marrakchi et Hamama 1995; Hamama <i>et al.</i> , 2002; Benkerroum <i>et al.</i> , 2004; Achemchem <i>et al.</i> , 2006

III.2.3. Principaux produits laitiers traditionnels d'Algérie

Plusieurs produits laitiers traditionnels sont fabriqués dans différentes régions du pays, parmi lesquels :

III.2.3.1. *Rayeb*

Le *Rayeb* ou « *Raïb* » fait partie des produits laitiers fermentés populaires en Algérie, est le lait fermenté obtenu par le mouillage ou le brassage non poussé du lait cru coagulé spontanément pendant un temps variant de 24h à 42h selon la saison. Le *Rayeb* est consommé tel quel transformé. Ce type garde sa totalité de matière grasse et possède un aspect onctueux (Mechai *et al.*, 2014 ; Bendimerad, 2013). Contrairement au *L'ben*, le *Raïb* ne subit pas une opération de barattage et d'écémage, il s'agit d'un lait fermenté entier. Il peut être consommé comme boisson après une simple homogénéisation, ou additionné aux autres plats traditionnels (*Couscous*, *Mesfouf*). De même qu'il entre dans la fabrication du *L'ben* (Aissaoui *et al.*, 2006).

III.2.3.2. *L'ben*

Le *L'ben* ou « *Laben* »: c'est du lait débarrassé de sa crème, et qui a subi ensuite une fermentation lactique, L'acide lactique à 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).

Le *L'ben* est fabriqué à partir du *Rayeb* qui est barattée dans une « *Chekoua* » faite de peau de chèvre, le barattage dure 30 à 40 minutes (Benkerroum et Tamime, 2004 ; Ouadghiri, 2009). Sa composition physico-chimique 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). Il est fabriqué à partir du lait de vache, de brebis ou de chèvre, dont, le lait subit une acidification spontanée par sa flore originelle jusqu'à coagulation. Par la suite, le caillé obtenu est introduit dans la *Chekoua* où il subit une forte agitation (barattage) et un certain volume d'eau chaude ou froide suivant la température ambiante est ajoutée (Belbeldi, 2012).

En Algérie, le *L'ben* entre aussi dans la fabrication de certains produits laitiers traditionnels tels que *Bouhezza* et *Klila* (Abid, 2015).

III.2.3.3. *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 aussi *Madghissa* (Aissaoui, 2003).

III.2.3.4. Klila

En Algérie, la *Klila* est un fromage traditionnel populaire à la campagne, il est fabriqué à partir du lait cru de vache ou de brebis non pasteurisé. Ce fromage est fabriqué par la conservation du lait dans des pots propres à la température ambiante (généralement à 2 jours) pour avoir après un goût acide. Le lait acide appelé "*Raïb*", est baraté dans une peau de chèvre spéciale (*Chekoua*) durant 1 à 2h puis l'eau est additionnée pour séparer le beurre qui va être après collectée. Après chauffage du "*L'ben*" pendant 15 min à 40-50 °C, le lactosérum est séparé du coagulum par filtration à travers une mousseline "*Chache*". Le fromage obtenu appelé *Klila* est consommé sous cette forme ou bien séché sous le soleil pour une longue conservation (Benlahcen *et al.*, 2017 ; Mahamedi, 2015 ; Mechai *et al.*, 2014).

III.2.3.5. 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 répandu dans l'Est Algérien, plus précisément dans les régions d'Oum El Bouaghi, Khenchela et dans certaines 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).

III.2.3.6. Takammarit

C'est un fromage de la région du Hoggar, sa fabrication se fait par introduction d'un morceau du caillotte de jeunes chevreaux dans lait, après quelques heures le caillé est retiré à l'aide d'une louche (Bendimerad, 2012 ; Djouhri et Madani, 2015). 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).

III.2.3.7. Smen

Le *Smen* c'est la *Zebda* ou *Dhen* qui 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).

Le beurre frais *Zebda* est obtenu après barattage du *Rayeb*. Ce dernier est occasionnellement augmenté d'une quantité d'eau tiède (40-50 °C) à la fin du barattage pour favoriser l'agglomération des globules lipidiques et accroître le rendement en beurre. Les globules gras apparaissant en surface, à la suite du barattage, sont séparés par une cuillère perforée. Le beurre frais obtenu présente une consistance molle du fait de la forte concentration en eau. Le surplus de beurre produit est transformé en beurre rancie *Smen* (Benkerroum et Tamine, 2004).

III.2.3.8. Kemaria

Est un type de fromage traditionnel qui caractérise une place très importante dans la société d'une valeur de consommation très remarquable autochtone de la Wilaya de Ghardaïa (Harrouz et Oulad Hadj, 2007)

La *Kemaria* ou *Takemarit* (en Berbère) est un fromage produit dans la région du sud algérien notamment dans les wilayas de Ghardaïa et Nâama. C'est un fromage traditionnel à base de lait cru de chèvre, de vache et de chamelle, avec l'ajout de sel (2 g/l) suivi d'un chauffage modéré à 37 °C. La coagulation se fait par des enzymes issues de caillette de chevreaux, ensuite le coagulum subit un égouttage dans des tissus pendant 30 min à 24h.

La *Kemaria* est utilisé à des fins festives et souvent servie avec du thé (Nouani et al., 2009).

a. Méthode de fabrication

Appelé aussi le fromage mou, et localement connu sous le nom de la *kemaria*, il est fabriqué par le lait cru de vache pour une fabrication industrielle et à base de lait de chèvre pour une fabrication domestique. La *Kemaria* peut être également obtenu à partir du lait de chamelle près mélange avec du lait de vache ou de lait de chèvre en utilisant une présure végétale sous forme d'un extrait d'artichaut disponible dans le commerce, à raison de 20 g pour 20 L du lait pendant une demi-heure jusqu'à sa coagulation. Vingt minutes après mélange, il va subir la séparation de liquide qui restera. La dernière étape consiste à poser le coagulum dans des moules. Il arrive que la présure végétale

soit remplacée par la présure animale qui issue de la caillette de chevreau, anciennement utilisée quand la présure végétale fait défaut (Benderouich, 2009).

Le digramme suivant explicite la méthode traditionnelle de fabrication de la *kemaria* :

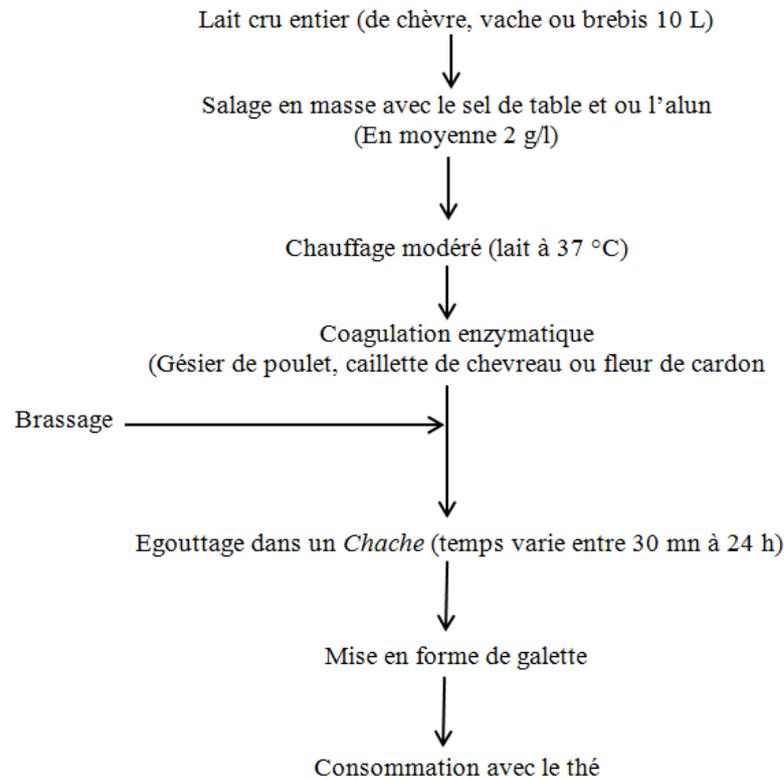


Figure 2. Diagramme de fabrication de la *kemaria*

b. Caractéristiques de la *Kemaria*

La *kemaria* se caractérise par sa couleur blanche, de bonne saveur (ce dernier est acquis 24 h après sa fabrication). Elle se consomme avec le thé. Elle doit être conservée au réfrigérateur pour éviter une altération du fromage :

- **Goût**

Les altérations de *kemaria* sont principalement l'apparition d'un goût acide après quelques jours de fabrication, amère ou acide et amère en même temps. Le goût acide est dû à la longue conservation.

- **Aspect et texture**

La texture de la *Kemaria* peut subir des modifications d'aspect et de texture indésirables. Par une pâte friable, une pâte à couleur (jaune foncée) et croûte modifiée suite à une longue conservation, une pâte trouée et une pâte granuleuse.

c. La place de la *Kemaria* dans la filière du lait

Habituellement, on distingue les fromages frais ou non fermentés, les fromages fermentés à pâte molle et les fromages fermentés à pâte dure ou demi dure.

La *Kemaria* c'est un type de fromage traditionnel qui caractérise une place très importante dans la société d'une valeur de consommation très remarquable autochtone de la wilaya de Ghardaïa.

80% du lait produit par chaque éleveur sont dirigés vers la seule unité de transformation qui existe dans la région d'étude. Les éleveurs établissent des contrats avec cette unité de transformation, le reste de la quantité est destiné à l'autoconsommation, et dans des cas exceptionnels (fêtes) l'éleveur garde une quantité pour la transformer en fromage traditionnel (*Kemaria*). Ce dernier est très répandu et demandé par les gens dans cette région. Il existe quelques éleveurs qui préfèrent vendre leurs produits eux-mêmes, soit de manière directe ou bien après sa Transformation (Harrouz et Oulad hadj, 2007).

d. La consommation de *Kemaria*

La plupart des consommateurs apprécie la *kemaria* comme fromage frais. Depuis de nombreuses générations cette tradition s'est enrichie au fil des ans, par les progrès de la technologie, et les consommateurs s'attachent de plus en plus à ce produit de terroir qui connaît une forte demande.

La *Kemaria* est consommée durant toute l'année. Cependant elle connaît un fort engouement durant les fêtes, notamment religieuses comme le *Mouloud*, le mois de Ramadhan et les mariages. Toutefois, la production de la *kemaria* est nulle durant le mois de ramadhan vu que la totalité du lait produit est consommé frais (forte demande de lait cru) (Benderouiche, 2009).

Tableau VI. Différences caractéristiques entre quelques fromages traditionnels algériens.

Formage	Matière première	Ajout	Conservation	Observations
<i>Kemaria</i>	Lait	Présure animale et végétale	Frais	consommé frais avec du thé
<i>Bouhezza</i>	Lai et <i>lben</i>	piment rouge	Dure	Le salage, l'égouttage et l'affinage sont réalisés simultanément (Zaidi, 2002)
<i>Jben</i>	Lait	Présure animale et épices		peu salé ou additionné d'épices ou de plantes aromatiques (Abdelazis et Ait Kaci, 1992)
<i>Klila</i>	<i>Lben</i>		Frais	Additionnée à certains plats traditionnels (Touati, 1990)
<i>Takammart</i>	Lait	Présure animale		eut subir un affinage durant un mois (Hellal, 2001)
<i>Madghissa</i>	lait frais	<i>Klila</i>	Frais	pâte jaune salée et élastique (Aissaoui, 2003)

IV. Les bactéries lactiques

IV.1. Généralités sur les bactéries lactiques

Avant le vingtième siècle, le terme bactéries lactiques (Lactic acid bacteria) a été utilisé pour signifier les organismes du lait acidifié (Milk-souring organisms). Significativement, la première culture pure de ces bactéries était celle de *Bacterium lactis* (probablement *Lactococcus lactis*), obtenu par Lister en 1873 (Mami, 2013)

Les bactéries lactiques sont très anciennes et sont apparues il y a près de 3 milliards d'années (Tailliez, 2001).

IV.2. Propriétés caractérisant le groupe des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont définies comme des cellules vivantes, procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes (Djellab et Kadri, 2010). Elles présentent un groupe hétérogène de micro-organismes produisant de l'acide lactique comme produit principal du métabolisme (Menasria, 2011). Ce groupe de bactéries regroupe des bacilles et des coques à Gram positif, non sporulés, ne produisent pas de catalase (Djeddi et Chabane, 2014). Elles n'ont pas de cytochrome, En ce qui concerne la nutrition, ce sont des organismes exigeants auxquels il faut fournir des multiple vitamines, Acide aminées, purines et pyrimidines (Benhadj, 2009). Sont aéro-anaérobie facultatives ou micro-aérophiles, à métabolisme fermentaire strict, acide-tolérantes et capables de croître à des températures comprises entre 10 °C et 45 °C (Mechai, 2009). Elles se développent majoritairement à pH 4,0-4,5 et certaines sont encore actives à pH 9,6 ou 3,2 (Baliarda, 2003). Toutes les bactéries lactiques ont un métabolisme fermentaire strictement saccharolytiques qui, en utilisant les glucides, peuvent produire soit :

- L'acide lactique exclusivement (bactéries homolactique strictes)
- L'acide lactique et de l'acide acétique (bactéries hétérolactiques facultatives)
- L'acide lactique, de l'acide acétique et de l'éthanol et de CO₂ (hétérolactiques stricte) (Houbad, 2015).

La figure suivant montre les deux voies fermentaires des bactéries lactiques

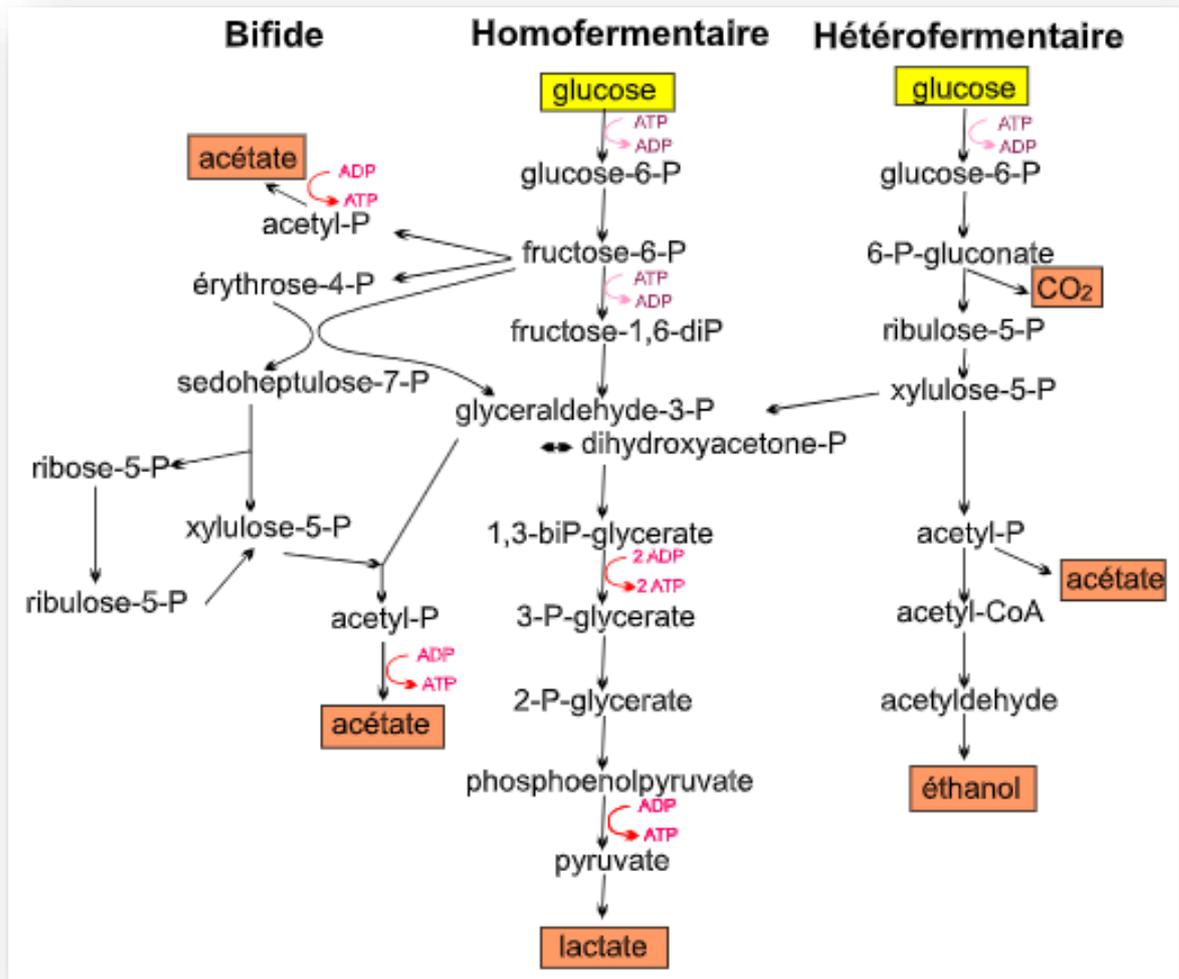


Figure 3. Principales voies fermentaires des hexoses chez LAB (Dridier et Prévost, 2009).

IV.3. Habitat et origine des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont ubiquistes et très fréquentes : Elles sont retrouvées dans différentes niches écologiques comme les produits laitiers, la viande, les végétaux, les céréales et font partie de la flore intestinale et vaginale humaine ou animale (Kouame, 2013 ; Mayo *et al.*, 2010; Klein *et al.*, 1998), généralement peuvent être saprophytes associées à des aliments riches en nutriments (Rahmoun, 2009). Elles se développent avec la levure dans le vin, la bière et le pain. Quelques espèces colonisent le tube digestif de l'homme et des animaux (Pilet *et al.*, 2005 ; Novel, 1993).

IV.4. Taxonomie des bactéries lactiques

Traditionnellement, les bactéries lactiques ont été classées sur la base des propriétés phénotypiques : la morphologie, le mode de fermentation du glucose, la croissance à différentes températures , etc. (Bouadjaib, 2013).

Selon la classification taxonomique (ARN 16s), elles appartiennent à l'embranchement des Firmicutes, classe des Bacilli, et l'ordre Lactobacillales. Les différentes familles comprennent *Aerococcaceae*, *Carnobacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Lactobacillaceae*, *Leuconostocaceae* et *Streptococcaceae* (Lahtinen *et al.*, 2012).

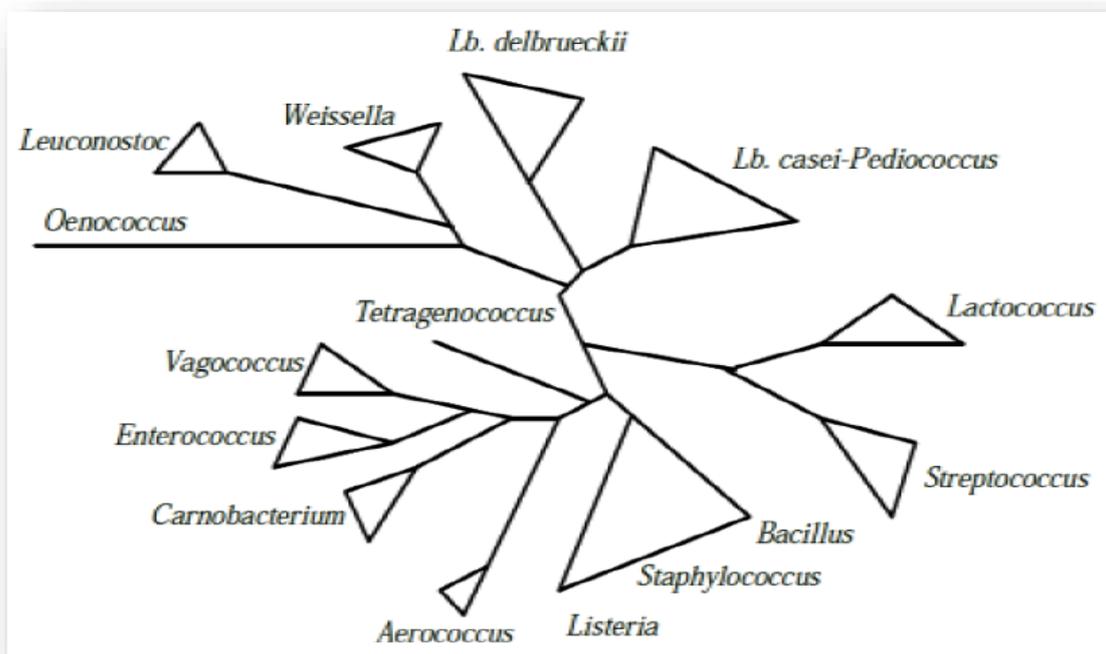


Figure 4. Arbre phylogénétique des bactéries lactiques (Lahtinen *et al.*, 2012).

IV.5. Principaux genres des bactéries lactiques

- *Lactobacillus*

Ce sont soit des bacilles longs parfois incurvés ou des *coccobacilles* courts isolés, comme elles peuvent former des chaînes. Elles sont généralement immobiles à l'exception de quelques espèces qui possèdent des flagelles péritriches. Acidophiles et peuvent croître à un pH optimum variant de 5.5 à 6.2. La température optimale de croissance est de 30 °C à 40 °C (Zergoug, 2018), mais peuvent croître à un intervalle de température allant de 2 °C à 53 °C. Les thermophiles sont incapables de se développer à moins de 15 °C. Le genre *Lactobacillus* peut être divisé en trois

groupes : homofermentaires stricts, hétérofermentaires facultatifs et hétérofermentaires stricts. (Moumene, 2016)

- ***Lactococcus***

Les cellules de ce genre sont sphériques ou ovoïdes isolées, en paires, ou en chaînes. De type mésophiles, leur température optimale varie de 10 à 40 °C mais sont incapables de se développer à 45 °C. Celles-ci se développent généralement à 4% de NaCl et à un pH proche de la neutralité, leur croissance s'arrêtant lorsque le pH du milieu atteint 4,5. Ce genre est un habitant typique des plantes, des animaux et de leurs produits (Ababsa, 2012).

Morphologiquement, les lactocoques sont des coques à Gram positif de 0,5-1,5 µm, Elles sont mésophiles, capables de fermenter les hexoses par voie homofermentaire, produisant de l'acide lactique L (+), et ont des exigences complexes pour sa croissance (Kim, 2014 ; Von Wright, 2012). ont été isolés à partir des végétaux (Cai *et al.*, 2010 ; Carr *et al.*, 2002), du lait, ou à partir d'autres sources animales, y compris l'intestin humain (Kubota *et al.*, 2010).

- ***Leuconostoc***

Les cellules de *Leuconostoc* sont des coques disposées en paires ou en chaînes comme les Streptocoques mais cette bactéries est hétéro fermentaire produisant de l'acide D (-) lactique, de l'éthanol et du CO₂, ses espèces sont caractérisée, par la production à partir du citrate du lait, de di acétyle, parfois du citrate, et de de 1-7 trines et de levures en présence de saccharose. (Berradia, 2016)

Les genres *Leuconostoc* se compose à l'heure actuelle exclusivement des espèces coccoïdes. Ses espèces de *Leuconostoc* sont non-thermophiles, et la température optimale de croissance est comprise entre 20 et 30 °C. Presque aucune croissance ne se produit au-dessous de 40 °C. Les espèces sont généralement non-acidophiles et préfèrent un pH du milieu initial entre 6 et 7 (sont parfois considérées comme des organismes de détérioration des produits réfrigérés (Björkroth *et al.*, 2014).

- ***Streptococcus***

Ces bactéries sont des cocci sphérique ou ovoïdes regroupées en paires ou en chaînettes ; en général immobiles ; à partir des glucides leur métabolisme est homofermentaire elles produisent un certain nombre d'agents antimicrobiens (Berradia, 2016).

Les membres du genre *Streptococcus* sont à gram positif, catalase négative, cytochrome-négative, anaérobies facultatives, ont un faible contenu en G+C (Du Toit *et al.*, 2014). Elles sont chimio-organotrophes, produisant de l'acide lactique L-(+)- en tant que principal produit final de la fermentation du glucose par la voie d'Embden-Meyerhof-Parnas (Tagg *et al.*, 2012). Les streptocoques ne sont pas mobiles et ne forment pas de spores. La température optimale de croissance est habituellement d'environ 37 °C, mais des températures de croissance minimale et maximale peuvent varier entre les espèces. Beaucoup d'entre elles sont commensales de l'homme et les animaux, et certaines sont hautement pathogènes (Whiley et Hardie, 2009).

- ***Enterococcus***

Les *Enterococcus* comprennent des cellules ovoïdes isolées, en paires ou en courtes chaînes, homofermentaires. Quelques espèces sont mobiles par des petits flagelles et d'autres possèdent une pseudo-catalase. Ce genre se caractérise par sa tolérance à 6.5% de NaCl, au pH: 9.6 et par la croissance à 10 °C et 45 °C avec une température optimale de croissance de 35 °C à 37 °C. (Moumene, 2016), ce genre regroupe les streptocoques fécaux qui présentent une hémolyse de type α , β , et qui appartiennent au groupe sérologique D. Ce sont des commensaux de l'intestin. Les espèces rencontrées dans l'alimentation sont essentiellement *En. faecalis* (auparavant *Streptococcus faecalis*), et ses variétés *En. durans* et *En. bovis*). Les *Enterococcus* sont les bactéries lactiques les plus controversées (Franz *et al.*, 2003). Elles produisent des bactériocines (Sabia *et al.*, 2002 ; Sabia *et al.*, 2003 ; Moreno *et al.*, 2006).

- ***Pediococcus***

Ce genre est représenté par neuf espèces ayant un métabolisme homofermentaire. Il rassemble des cellules immobiles de forme sphérique parfois ovoïdes, isolées ou en paires qui se divisent dans deux directions perpendiculaires formant ainsi les tétrades mais jamais les chaînes. Certaines espèces produisent une catalase ou une pseudocatalase. Les cellules sont acidophiles mais non halophiles et croissent à pH: 5 mais pas à pH: 9, la température optimale de croissance variée est dans l'intervalle de 25 °C à 35 °C (Moumene, 2016)

Les *pédiocoques* sont également des bactéries lactiques autochtones qui permettent la maturation des fromages (Gurira *et al.*, 2005 ; Gonzalez *et al.*, 2007).

- ***Bifidobacterium***

Les bifidobactéries sont des bacilles à gram positif, non mobiles, ne produisent pas du gaz et ne forment pas de spores. Elles sont des anaérobies mais quelques espèces tolèrent l'O₂ dans la

présence ou non du CO₂. Ces dernières sont dépourvues de la catalase, elles dégradent le saccharose en produisant de l'acide acétique et l'acide lactique sans production du gaz. Le glucose est dégradé exclusivement et particulièrement par la Fructose-6-phosphoketolase (F6PPK). Le contenu en G+C est de 61 % (Mattarelli et Biavati, 2014).

Bifidobacterium (anciennement *Lactobacillus bifidus*) est présent dans la flore intestinale du nouveau-né. Il est utilisé dans certains yaourts (probiotiques). Sa présence entraînerait un effet anti-infectieux au niveau intestinal à cause de la présence d'un facteur bifidogène. *Bifidobacterium* est phylogéniquement proche des Actinomycètes alors que les autres bactéries sont proches des clostridies (Hennine et Serière, 2017)

IV.6. Intérêts des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont largement utilisées dans l'industrie alimentaire, en tant que starters dans les procédés de fermentation. Elles contribuent à la texture, à la saveur des aliments et à la production de composés aromatiques (diacétyl, acétaldéhyde et acétate et ce à partir du citrate). La flore lactique fermente les glucides en acide lactique, d'où une diminution du pH favorable à la bioconservation des aliments (Alaoui *et al.*, 2016).

Les produits dérivés issus d'une fermentation lactique traditionnelle connaissent depuis quelques années un développement considérable grâce, à l'intérêt que trouvent les consommateurs sur le plan organoleptique, nutritionnel, thérapeutique, voire hygiénique en raison de leur acidité (Lairini *et al.*, 2014).

Dans le domaine de la santé, certaines bactéries lactiques spécifiques sont utilisées comme probiotiques c'est-à-dire des micro-organismes vivants dont l'application à l'homme ou à l'animal exercent un effet bénéfique sur la santé de ce dernier par amélioration des propriétés de la flore intestinale. Les espèces couramment utilisées sont *Lb. acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. johnsonii*, *Lb. reuteri*, *Lb. derbruecki* subsp *bulgaricus* (Salminen *et al.*, 2004).

Différentes études ont démontré le rôle préventif aussi bien que curatif de ces bactéries sur plusieurs types de diarrhées (Mkrtchyan *et al.*, 2010). D'autres ont cité leur capacité de diminuer les allergies liées aux aliments grâce à leur activité protéolytique (El-Ghaish *et al.*, 2011).

CHAPITRE II

Matériel et

méthodes

L'ensemble de ce travail a été effectué au sein de trois différents laboratoires à savoir :

Les laboratoires du département de biologie à université de Ghardaïa ;

Le Laboratoire annexe de contrôle de la qualité et de la répression des fraudes (CACQE) de la Wilaya de Ghardaïa ;

Le laboratoire de microbiologie de l'institut national Spécialisé en Formation Professionnelle Mohamed Cherif Messaâdia.

1. Echantillonnage

Huit (08) échantillons du fromage traditionnel *Kemaria* fabriqués d'une manière traditionnelle dans des conditions non contrôlées, ont été recueillis à partir de différents endroits dans la ville de Ghardaïa (Mansoura, El Atteuf et Daïa Ben Dahoua). Ces échantillons de fromage à base du lait de vache ont été prélevés dans les conditions d'asepsie en prenant des quantités de 200 g mises dans des pots stériles et transportés par la suite dans une glacière (4 °C) vers le laboratoire afin de procéder aux différentes analyses de notre étude.

2. Analyses physico-chimiques

2.1. Mesure de pH

Le pH est mesuré selon la méthode rapportée par Owusu-Kwarteng *et al.* (2012), dont, un échantillon de 10 grammes du fromage a été homogénéisé dans 90 ml d'eau distillée. Après avoir étalonné le pH-mètre, le pH est déterminé par l'immersion de l'électrode du pH-mètre dans le mélange.

2.2. Mesure de l'acidité titrable

L'acidité titrable est mesurée en prenant 10 g de fromage finement broyé et les solubilise dans un volume d'eau distillée chauffée à 40 °C dans une fiole jaugée de 105 ml. Ensuite, le mélange est agité vigoureusement puis filtré. Un volume de 25 ml du filtrat représentant 2.5g de fromage est titré par une solution de NaOH à 0.1 N, en présence de phénolphthaléine alcoolique (1N) (AOAC, 1980).

Le résultat est exprimé en pourcentage d'acide lactique dans 100g de fromage.

(1ml NaOH correspond à 0.0090 g d'acide lactique et 1°D = 0,1 g d'acide lactique).

2.3. Dosage 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 du fromage après étuvage et dessiccation.

2.4. Dosage la matière grasse Méthode de VANGULIK

Cette méthode est applicable à tous les types de fromages sauf ceux présentant des moisissures en raison du phénomène de lipolyse.

Le dosage de la matière grasse est réalisé selon la méthode acide-butyrométrique de Van Gluck conformément à la norme ISO 3433 : 2008 et la norme AFNOR1993. Son principe est basé sur la dissolution du fromage par l'acide sulfurique (excepté de la matière grasse) puis la séparation de la matière grasse sous l'influence d'une force centrifuge et l'adjonction d'une faible quantité d'alcool iso-amylque.

Trois grammes de fromage sont pesés et placés dans un godet pour butyromètre de fromage jusqu'à l'immersion totale du godet et son contenu. Les butyromètres sont placés dans un bain marie à 65 °C sous agitation pour assurer la dissolution totale du fromage. 1 mL d'alcool iso-amylque (3-méthyle, 1-butanol de densité égale à $d = 0,818 \text{ g/ml}$) est ajouté puis les butyromètres sont remplis avec l'acide sulfurique (H_2SO_4 $d = 1,522$) jusqu'aux 4/5ème de la tige. Après une agitation modérée du butyromètre, une centrifugation est réalisée pendant 10 min à une vitesse de 1200 tr/min.

La teneur en matière grasse est exprimée en grammes pour 100 g de fromage, par lecture directe sur l'échelle de butyromètre.

2.5. Dosage des protéines par la méthode de LOWRY

Le dosage des protéines est déterminé par la méthode de LOWRY (Lowry *et al.*, 1951). L'addition successive à une solution protéique diluée d'un sel de cuivre en milieu alcalin puis de réactif de

Folin-Ciocalteu donne une coloration bleu foncée. Celle-ci résulte de la réaction du cuivre avec les liaisons peptidiques et la réduction de l'acide phospho-tungsto-molybdique par la tyrosine, le tryptophane et la cystéine (Delobette *et al.*, 1991).

Les espèces réduites absorbent la lumière à 750 nm. A cette longueur d'onde, le spectrophotomètre donne une valeur de densité optique (DO) qui permet de déterminer la concentration en protéines de l'échantillon analysé en se référant par projection à une courbe d'étalonnage $DO = f(C)$ où l'albumine sérique bovine commerciale est utilisée comme protéine étalon.

Après prélèvement et homogénéisation au mortier, 10 g de fromage sont dissous dans 40 mL de solution de citrate de sodium à 0,5% et pH 5,2 préalablement chauffé à 45 °C ; le procédé est comme suit: A partir d'un échantillon contenant de 25 à 100 µg de protéine, 1 mL de chaque échantillon est pris et ajouter à 5 mL de la solution C. Après avoir laissé pour 10 min puis ajouter 0,5 mL de réactif de Folin, laisser 30 min à l'obscurité puis lire la DO à 750 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

La solution C : solution cuivrique alcaline; mélange de 50mL du réactif A avec 1 mL du réactif B, laisser une nuit.

Où: **-La solution A** : 2% Na_2CO_3 dans NaOH 0,1 N.

-La solution B : 0,32% CuSO_4 , 1% Tartrate de sodium et potassium (2 mL de la solution cuivrique avec 2 mL de solution de tartrate).

La teneur en protéines est exprimée en gramme pour cent gramme de fromage.

2.6. Classification du fromage *Kemaria* d'après codex alimentaire

2.6.1. Rapport matière grasse/matière sèche (MG/ES)

Le rapport matière grasse/la matière sèche exprimée en gramme pour 100 g de matière sèche est donné par la formule suivante :

$$R = \text{MG/ES} \times 100$$

MG: Matière grasse.

ES: extrait sèche.

R : Rapport %.

2.6.2. Détermination de la teneur en eau dans le fromage dégraissé

Ce paramètre informe sur la consistance de la pâte fromagère et il est utilisé pour la classification des fromages selon la norme FAO/OMS n° A-6-1978.

$$\text{TEFD} = \frac{(\text{Poids total du fromage} - \text{matière grasse du fromage})}{\text{Poids de l'eau du fromage.}} \times 100$$

La classification de fromage se fait selon la table de référence de codex alimentaire russe (annexe I).

3. Analyses de la qualité hygiénique

3.1. Préparation de la solution mère

Introduire et diluer aseptiquement 10 g de l'échantillon du fromage à pâte molle à analyser, qui constitue l'unité d'analyse dans un sachet Stomacher, contenant au préalable 90 ml D'EPT (Eau Peptonée Tamponnée) V/P, qui va permettre de revitaliser les microorganismes présents.

On scelle ensuite ce sachet pour qu'il puisse être utilisé dans le Stomacher pendant 2 min. Cet appareil, par une action mécanique, va assurer le broyage et l'homogénéisation, afin d'obtenir une dilution 10^{-1} puis filtre et introduire dans des flacons à 250 mL stériles.

3.2. Préparation des dilutions décimales

Dans des conditions aseptiques, Les dilutions décimales ont été réalisées à partir de la solution mère jusqu'à la dilution 10^{-7} . La technique a consisté à prélever, à l'aide d'une pipette graduée stérile, 1 mL de la solution mère puis à l'incorporer à 9 mL de l'eau physiologique stérile.

Les dilutions obtenues ont étéensemencées sur les milieux de culture spécifiques aux germes recherchés (J.O.R.A, 2004)

3.3. La recherche d'*E. coli*

La recherche et la démembrement d'*Escherechia coli* présumés a été réalisée selon la technique du nombre le plus probable (NPP). tous cela ; on suivi la réglementation Algérienne décrites dans l'Arrêté du 13 juin 2017 publié dans le JORA N° 64 du 7 novembre 2017 et ISO 7251 :2005(f).

Le bouillon le Lauryl Sulfate Tryptose (LST) simple et double concentration est utilisé comme test présomptif pour le dénombrement d'*E. Coli* présumés, selon la méthode de NPP (3 tubes) en deux étapes (présomption et confirmation). En effet, le test de présomption consiste à prendre une

série de 9 tubes contenant le milieu (LST) à raison d'une série de trois tubes par dilution. A partir des dilutions décimales, un volume d'1 ml est mis dans chacun des trois tubes correspondant à une dilution donnée. L'incubation est à 37 °C pendant une durée de 24 à 48 heures. De ce fait, les tubes présentant un trouble microbien et de gaz capté à l'intérieur de la cloche sont considérés comme positifs. Ils feront systématiquement l'objet d'un test de confirmation. Pour ce dernier, les tubes positifs sur le milieu LST simple et double concentration sont repiqués (2 à 3 gouttes) sur bouillon EC et tubes de l'eau peptonnée exempte d'indole. L'incubation à 44 °C se fait pendant 24 heures

En cas où le résultat est positif dans bouillon EC et une production d'indole dans l'eau peptonnée à partir d'un acide aminé le tryptophane, par adjonction du réactif d' Kovacs (l'apparition d'un anneau rouge), la présence d'*Escherichia coli* est constatée.

3.4. Recherche de *Staphylococcus*

La recherche a été réalisée selon les recommandations de la réglementation algérienne décrites dans l'Arrêté du 23 novembre 2014 publié dans le journal officiel de la république algérienne n°68.

Les staphylocoques ont été dénombrés sur la gélose de Baird Parker additionnée au émulsion de jaune d'œuf et au tellurite de potassium ; On introduisant 0.1 ml de la suspension mère (dilution 10^{-1}) à la surface du milieu de culture suivie d'un étalement et incubée de 24 à 48 heures à 37 °C. Les colonies caractéristiques après 48 h sont noires, brillantes et convexes et entourées d'une zone claire qui peut être partiellement opaque. La confirmation sera effectuée par les tests : catalase, ADNase (ou coagulase) et coloration de Gram.

3.5. Recherche de *Salmonella*

La recherche de *Salmonella* a été réalisée selon la méthode ISO 6579-2002. Elle nécessite quatre étapes successives,

a) Un pré-enrichissement sur l'eau peptonnée par prélèvement de 25 g du fromage dans 225 ml d'eau peptonnée. Une agitation est effectuée pour avoir une suspension, qui est ensuite transposée dans un flacon stérile qu'on incube à 37 °C pendant 18 à 24 heures.

b) L'enrichissement s'effectue sur le bouillon Rappaport-vassilaidis il se fait donc à partir du milieu de pré-enrichissement ; 0.1 ml est rajouté dans le bouillon RVS contenant 10 ml. Par la suite, le tube est mélangé soigneusement, incubation à 44 °C de 24 h est procédée.

c) L'isolement est réalisé en prélevant une goutte du milieu d'enrichissement avec l'anse de platine que l'on ensemence en stries sur milieu sélectif Bismuth Sulfite (gélose de Wilson Blair) puis

incuber à 37 °C pendant 24h. Les salmonelles se développent sous forme de colonies noires, plates, sèches entourées d'une zone brun noir.

d) Confirmation :En dernier on repique les colonies présumées de Salmonella isolées et confirmation au moyen des essais biochimiques et sérologiques approprié .

3.6. Dénombrement de la flore lactique sur MRS

Un volume d'1 ml à partir des dilutions de 10^{-2} jusqu'au 10^{-7} est mis dans une boîte de Pétri, puis la gélose MRS est coulée, fondue et refroidie à 45 ± 1 °C. Les boîtes sont incubées en anaérobiose à 30 °C pendant 72 heures. (J.O.R.A, 2004) La méthode de dénombrement est celle mentionnée par Joffin et Leyral (2006).

4. Identification et caractérisation des bactéries lactiques

4.1. Isolement et purification

L'isolement a été procédé sur deux milieux des cultures ; MRS (De Man *et al.*, 1960) à pH 6.8 pour isoler la flore lactique et M17 (Terzaghi et Sandine, 1975) pour les coques lactique, tout cela a été effectué à température d'incubation 30 °C (Guiraud, 1998). La procédure d'isolement définie qu'un volume de 1 ml de chaque solution de dilution a été pris pour faire l'objet d'un ensemencement en profondeur dans les différents milieux précédemment mentionnés, par la suite ces milieux fondus et refroidis sont coulés. L'incubation est de 24 à 48 h incubés en anaérobiose (Mahamedi, 2015).

Une fois les colonies apparaissent, 4 à 6 d'aspects différents sont prises au hasard et mises dans le bouillon MRS incubé par la suite à 30 °C pendant 24 h. Si un trouble bactérien apparaît, cela signifie l'accroissement des bactéries et que ces cultures ont subi des repiquages successifs de milieux liquides vers les milieux solides et vice versa, jusqu'à l'obtention d'une culture pure.

4.2. Caractérisation préliminaire des isolats lactiques

4.2.1. Étude morphologiques

4.2.1.1. Etude macroscopique

Cette étude est basée sur l'observation visuelle de la culture des isolats sur milieu MRS solide et liquide; pour caractériser la taille, la forme et la couleur des colonies ainsi l'aspect du trouble dans le milieu liquide (Badis *et al.*, 2004).

4.2.1.2. Etude microscopique

L'étude microscopique par l'intermédiaire de la coloration de Gram suivie d'une observation microscopique à l'objectif à immersion permet de classer les bactéries selon leur type de Gram, leur morphologie cellulaire, leur mode d'association (Hilali, 2002).

4.2.2. Test de la catalase

Les bactéries lactique sont aérobies anaérobie facultatives et ne possèdent pas l'enzyme de la catalase pour dégrader le peroxyde d'hydrogène en oxygène et eau .Pour ce test une goutte de H_2O_2 à 10% est déposée sur une lame en verre propre et une colonie prélevée à l'aide d'une pipette pasteur stérile y est ajoutée, le résultat est positif lorsqu'il y a apparition de bulles représentant le dégagement d' O_2 ; Seules les colonies négatives au test de catalase ont été retenues pour la suite des analyses (Guiraud, 2003).

4.3. Conservation des isolats

La conservation des isolats à court terme a été effectuée dans des tubes à essais en géloses MRS inclinées en tubes à raison d'un repiquage toutes les 4 semaines. A long terme, des cultures pures sont placées en tubes Eppendorfs contenant les bouillons MRS (bacilles) ou M17 (cocci) additionnés de 30% (v/v) de glycérol stérile puis conservés à $-20\text{ }^\circ\text{C}$ (Idoui *et al.*, 2008).

4.4. Caractérisation physiologique et biochimique des isolats lactiques

Les isolats à Gram positif et catalase négative sont retenus comme étant des bactéries lactiques. Leur identification est faite conformément au protocole de Carr *et al.* (2002) et usage des caractères biochimiques et physiologiques différentiels de Von Wright et Axelsson (2012)

4.4.1. Caractérisation physiologique

a) Croissance à différentes de température

Ce test permet de faire la distinction entre les bactéries thermophiles des mésophiles, aussi, il joue un rôle très important comme critère majeur d'identification.

Différents températures ont été appliquées ; 15, 30 et $45\text{ }^\circ\text{C}$. Sur le bouillon MRS ou M17, les isolats ont étéensemencés, et incubés pondant 24 à 48 h.

Le résultat positif se manifesterait par l'apparition du trouble microbien et parfois accompagné d'un précipitât au fond du tube (Carr *et al.*, 2002 ; Badis *et al.*, 2004).

b) Croissance en milieu hypersalé

La méthode consiste à ensemencer des bouillons hypersalés à concentrations de 4 % de 6,5% e (p/v) de NaCl par des cultures jeunes. Après incubation à 30 °C pendant 24 à 72 h, la croissance de ces bactéries se manifeste par un trouble du milieu en comparaison avec un tube témoin non ensemencé (Sherman, 1937 ; Carr *et al.*, 2002 ; Axelsson, 2012).

c) Croissance au pH alcalin et au pH acide

Des cultures jeunes sont ensemencées sur bouillons hyperalcalin (pH 9,6) et hyperacide (pH 4,4). Après une incubation à 30 °C pendant 24 à 72 heures, l'aptitude à croître sur ces milieux se traduit par l'apparition d'un trouble.

La croissance est appréciée par comparaison avec un tube de milieu de culture non ensemencé incubé à la même température (Carr *et al.*, 2002 ; Mathara *et al.*, 2004).

d) Type fermentaire

Ce test différencie entre les bactéries homofermentaires qu'ils produisent 90% d'acide lactique et seulement 10% de CO₂, alors que les bactéries hétérofermentaires produisent l'acide lactique et le CO₂ en proportions égales.

Dans des tubes contenant du bouillon MRS avec chacun une cloche de Durham immergée, les bactéries ont été repiquées. Après une période de 24 à 48 h d'incubation à 30 °C, le résultat positif se traduirait par le dégagement du gaz à l'intérieur de la cloche (Carr *et al.*, 2002).

e) Test de thermorésistance

La thermorésistance est réalisée pour les cocci, un tube contenant 10 ml de bouillon MRS est inoculé par le souche isolée, ensuite les tubes sont déposées dans un bain marie à 63.5 °C pendant 30 min, après refroidissement brusque, les souches sont incubées à 30 °C pendant 24 à 48 h. un résultat positif se traduit par un trouble (Badis *et al.*, 2004).

f) Test du lait de Sherman

Dans ce test, le développement de bactéries dans 1% et 3% du bleu de méthylène est testée ; du lait écrémé additionné de 0.1% et /ou 0.3 % de bleu de méthylène (1 mL de solution à 0.1 % et /ou 3 % par tube de 9 mL de lait) est ensemencé et incubé durant une période de 24 à 48 h. Le résultat positif se traduirait par la coagulation du lait et la réduction de la couleur (Moulay *et al.*, 2013).

4.4.2. Caractérisation biochimique par galeries API 50 CHL (Profil fermentaire des sucres)

Les bactéries lactiques isolées sont identifiées au niveau de l'espèce ou de sous espèce en établissant leurs profils fermentaires à l'aide du microsystème d'identification API 50 CHL (Biomérieux, France). API 50 CHL est un système standardisé associant 49 tests biochimiques permettant l'étude du métabolisme des hydrates de carbone des microorganismes. Elle est composée de 50 microtubes permettant l'étude de la fermentation du substrat appartenant à la famille des hydrates de carbone et dérivés (hétérosides, polyalcools, acides uroniques) contenant des substrats sous forme déshydratée. L'inoculum est préparé dans le milieu approprié api 50 CHL medium à partir des cultures pures dans la gélose nutritive pour assurer la pureté des souches. Ensuite l'inoculum est réparti à l'aide d'une pipette stérile dans les 50 tubes de la galerie tout en respectant les conditions d'asepsie. Les puits ont ensuite été recouverts de 2 gouttes d'huile de paraffine afin de créer des conditions anaérobies. L'incubation est réalisée à 30 °C pendant 24h puis prolongée jusqu'à 48 h. La fermentation du substrat se traduit par un couleur jaune exceptée pour l'esculine (brun foncé).

5. Caractérisation technologique des souches lactiques

5.1. Pouvoir protéolytique

L'évaluation qualitative de l'activité protéolytique des souches testées a été réalisée sur gélose Plate Count Agar (PCA) additionnée de lait écrémé à 1, 2 et 3 % selon la méthode de Van den berg *et al* (1996).

Les souches à tester sontensemencée par la méthode de touche à partir des cultures jeunes (18 h) à la surface du milieu de culture à l'aide d'une anse. Après incubation à 30 °C pendant 24 à 48 heures, l'activité protéolytique est reconnue stable par la présence d'un halo clair autour des colonies, puis les diamètres des zones translucides de protéolyse sont mesurés (Thapa *et al.*, 2006).

5.2. Activité lipolytique

La mise en évidence de l'activité lipolytique a été menée sur le milieu MRS tamponné additionné de 3% de Tween 80 (Karam *et al.*, 2012).

L'inoculation des souches (cultures jeunes de 18 h) a été réalisée par la méthode de touche, en surface, puis les boîtes sont incubées à 30 °C de 24h à 48 h. Des zones apparaîtront, signifient l'activité de la protéolyse bactérienne.

6. Pouvoir antagonique

6.1. Méthode de spot

La méthode directe de l'étude des interactions entre les micro-organismes de Fleming *et al.* (1975), consiste à cultiver les souches lactiques et celles des pathogènes dans le même milieu en double couche.

A partir de cultures jeunes (incubées pendant 18 h) de nos souches lactiques, un ensemencement par touches est réalisé à la surface du milieu MRS gélosé, suivie d'une incubation à 30 °C pendant 24 h, après séchage des points.

Le lendemain, un volume de 100 µL pris à partir d'une culture jeune des bactéries indicatrices (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Salmonella* sp.) est versé dans 7,5 ml du milieu Mueller Hinton (MH) semi-solide (contenant 0,7 % d'agar-agar). Celui-ci a subi un étalement sur la gélose contenant les spots des souches lactiques. Après solidification du milieu, les boîtes de Pétri sont mises à l'étuve à 30 °C pendant 24h. Un halo clair autour des spots des souches lactiques, traduit l'inhibition, en mesurant leurs dimensions

6.2. Méthode de diffusion sur agar

Les souches lactiques ont été testées pour leur activité antagoniste contre les bactéries pathogènes indicatrices (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Salmonella* sp.) par la méthode de diffusion sur gélose selon le protocole modifié de Hasegawa et al. (1990).

Les souches lactiques et les pathogènes ont été cultivées sur des milieux MRS et BN, respectivement pendant à 30 et à 37 °C pendant 18 h. Des disques de gélose (10 mm) ont été coupés par un emporte-pièce et transférés à la surface de la gélose, préalablement inoculées avec les souches pathogènes. Les boîtes de Pétri ont été conservées au réfrigérateur pendant 2 heures avant de les mettre à l'incubation pour permettre la diffusion de substances antimicrobiennes. Le diamètre des zones d'inhibition a été mesuré après une incubation de 24 et 48 h à 30 °C.

CHAPITRE III

Résultats et

discussion

1. Analyses physico-chimiques

1.1. pH

La mesure des taux de pH des huit échantillons examinés montre des valeurs autour du pH de neutralité et sont situés dans un même intervalle, avec un moyen de 6,9. La valeur la plus importante enregistrée était pour l'échantillon K8 avec un pH égal à 7,01. Par ailleurs, la valeur la plus faible de pH est enregistrée pour l'échantillon (PH=6,66).

Les résultats de l'évaluation des taux de pH obtenus à partir des différents échantillons sont illustrés dans la figure 5 ci-dessous.

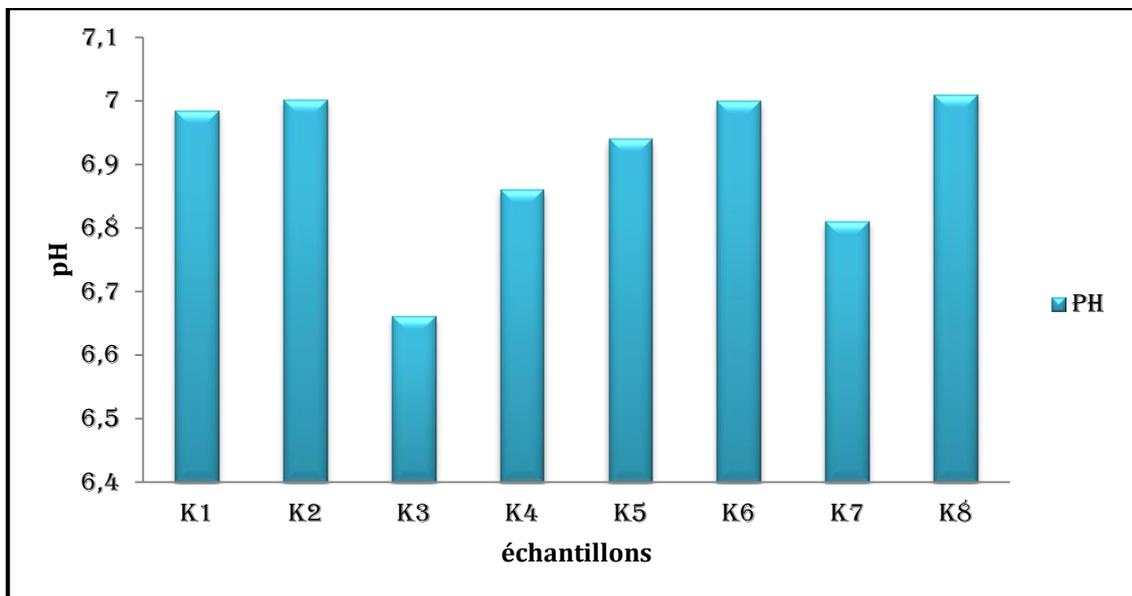


Figure 5. Histogramme représente les valeurs de pH des différents échantillons de *Kemaria*.

1.2. Acidité titrable

La quantité de l'acide lactique titerait dans nos échantillons sont plus au moins basses, les valeurs sont variées entre 16 °D en tant que valeur maximale enregistrée pour l'échantillon K3 et 10 °D comme la valeur la plus basse enregistrée dans plusieurs échantillons, cependant, une moyenne de (11 °D) a été noté.

Les mesures de l'acidité Doronic de *Kemaria* par titration sont représentées dans la figure 6.

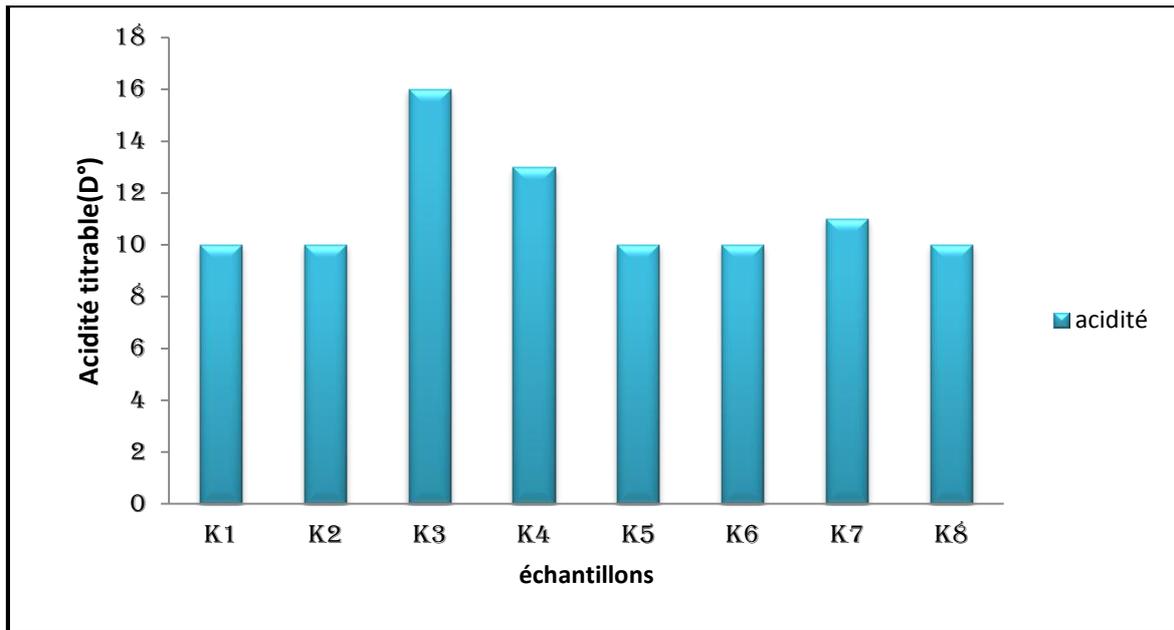


Figure 6. Histogramme représente les valeurs de l'acidité titrable des huit échantillons de la Kemaria.

1.3. Extrait sec total

Les résultats de la quantité de matière sèche mesurée après dessiccation, exprimée en pourcentage (%) montre que les valeurs de nos échantillons atteignent une moyenne de 52,6 g pour 100 g de fromage, dont, l'échantillon 5 possède le taux le plus élevé avec une valeur d'EST autour de 70.3%. La figure 7 illustre les résultats d'évaluation des pourcentages d'EST obtenus.

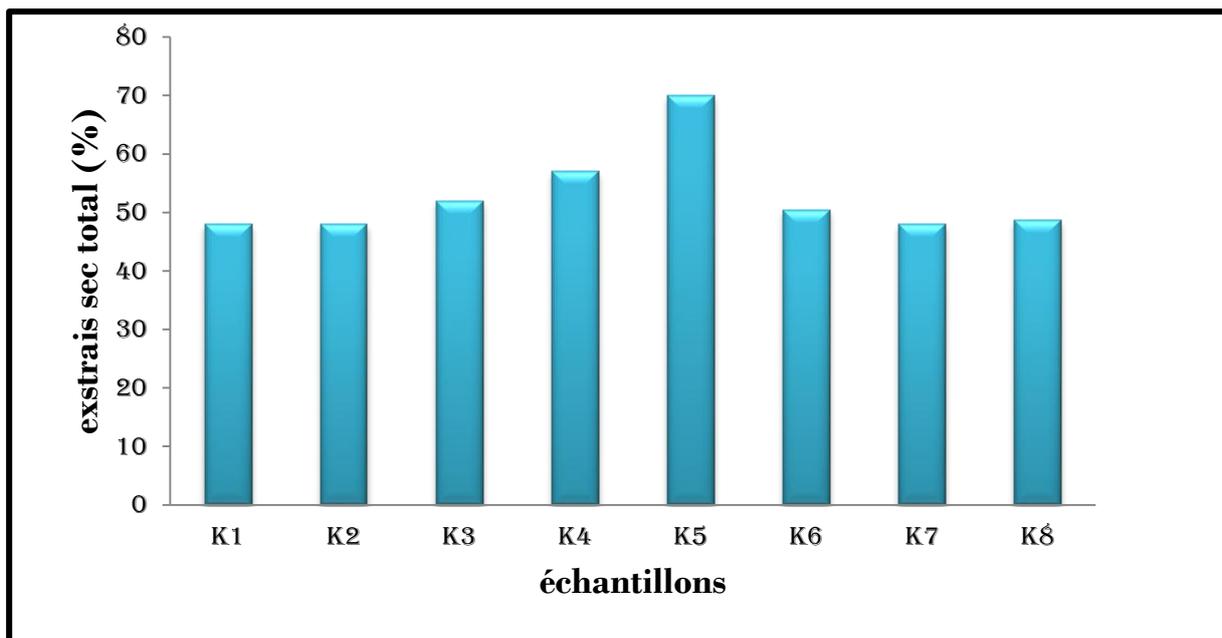


Figure 7. Histogramme représentant les valeurs de l'EST des huit échantillons de Kemaria.

1.4. Teneur en matière grasse

Le dosage de la quantité en matière grasse par méthode butyrométrique à révélé des valeurs proches entre la totalité des échantillons examinés, avec une moyenne totale de l'ordre de 14,72% et avec un écart allant de 12 à 16,5%. Alors que, la valeur maximale obtenue était autour de 17% enregistrée pour K1.

Les résultats de dosage de la matière grasse par la méthode acide-butyrométrique de Van Gluk des huit échantillons sont représentés dans la figure 8.

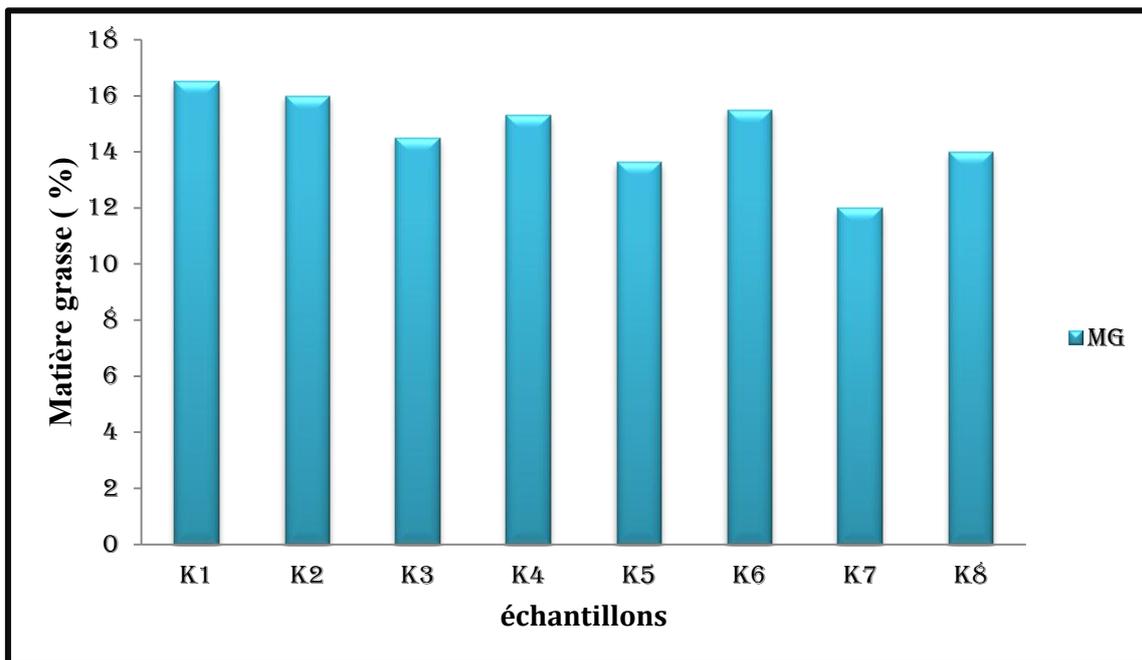


Figure 8. . Histogrammes des teneurs en matière grasse (MG) des huit échantillons de Kemaria

1.5. Dosage des protéines par la méthode de Lowry

Les résultats de la concentration totale en protéines des échantillons examinés montre que le taux de protéine sont basse avec un moyen de 0,065 g dans 100 gramme de fromage, la valeur la plus élevée a été enregistré pour les échantillons k1 et k8 avec une valeur atteignant 0,10%.

Les résultats qui concernent la tenure en protéine présentés en g/100g fromage sont représentés dans la figure 9.

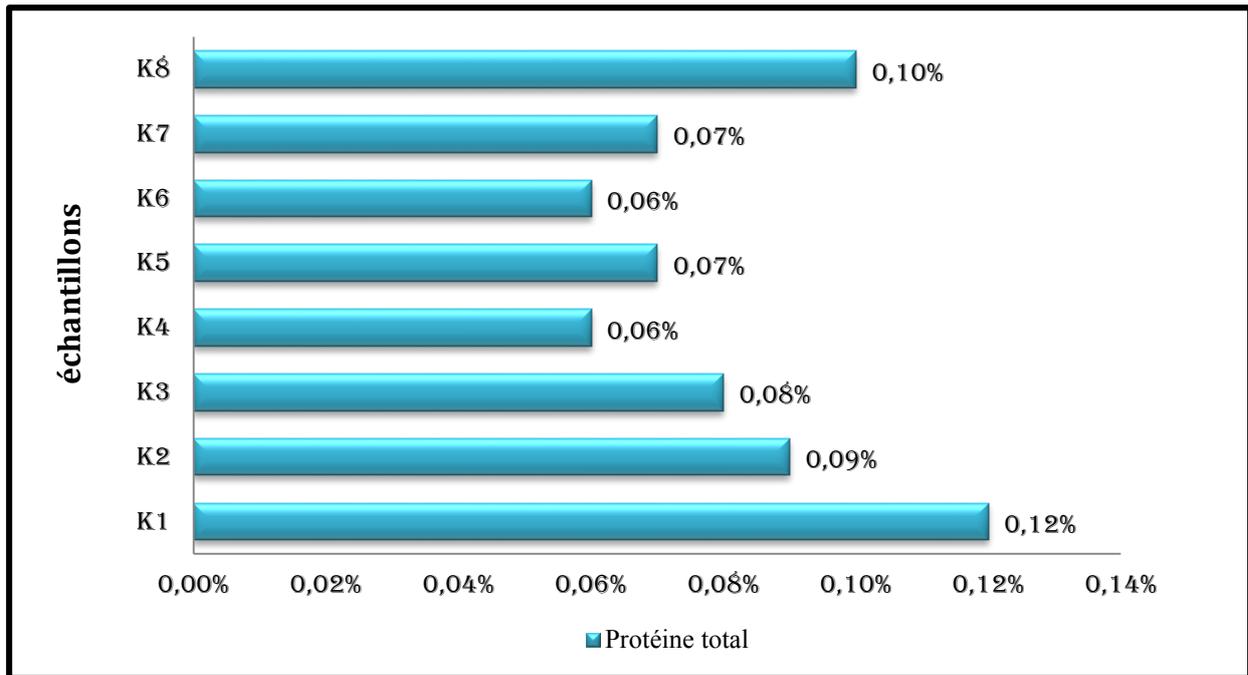


Figure 9. Représentation des valeurs du dosage des protéines totales de la *Kemaria* exprimés en g/100g de produit examiné.

1.6. Classification du fromage *Kemaria* d'après codex alimentaire

Les résultats obtenus à pour les valeurs moyennes de TEFD% et MGES% des huit échantillons ont été représenté dans le tableau suivant :

Tableau VII. Résultats de TEFD% et MGES% des huit échantillons de *Kemaria*.

Echantillons	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7	K8	MOYENNE
MGES(%)	34,3	42,8	32,7	33,9	20,8	31,3	32,5	31,5	31
TEFD (%)	62	74	65	78	35	66	64	63	63,3

TEFD = Pourcentage de la teneur en eau dans le fromage dégraissé.

MGES = Pourcentage de la matière grasse dans l'extrait sec.

On prenant compte des résultats obtenus par la mesure des différents paramètre physicochimiques, la classification de ce type de fromages analysés qui a été défini par les normes du codex alimentaire CODEX STAN A-6-1978, est obtenue après application des trois formules mentionnées dans le tableau (ANNEXE I).

Nous échantillons de fromage traditionnel (*kemaria*) a été classée dans la catégorie des fromages à pâte demi-molle (teneur en eau dans le fromage dégraissé varie de 61 à 69) et le

taux de la matière grasse dans l'extrait sec (MGES) varient d'à 25 à 45 % montres que *Kemaria* est un fromage mi-gras.

2. Analyses de la qualité hygiénique

Un contrôle microbiologique suivant les recommandations de la législation algérienne des échantillons à été procédé pour déterminer la conformité du fromage *Kemaria* aux normes de la qualité hygiénique, dont, les résultats du dénombrement des principaux groupes microbiens et la recherche des bactéries à potentiel pathogène étaient obtenus.

2.1. Recherche et Dénombrement *d'Escherichia coli*.

Les *E. coli* ont été énumérées suivant la méthode du nombre le plus probable (NPP). Dans la figure citée plus bas ; le résultat de test présomptif dans le bouillon LST à simple et à double concentration ; le résultat positif se traduit par un trouble microbien et de l'air capté à l'intérieur de la cloche de Durham (tubes 1, 2, 3, 4, 5, 6 et 8). En revanche, les tubes (7 et 9) révèlent une réaction négative en restant vierges (figure 10).

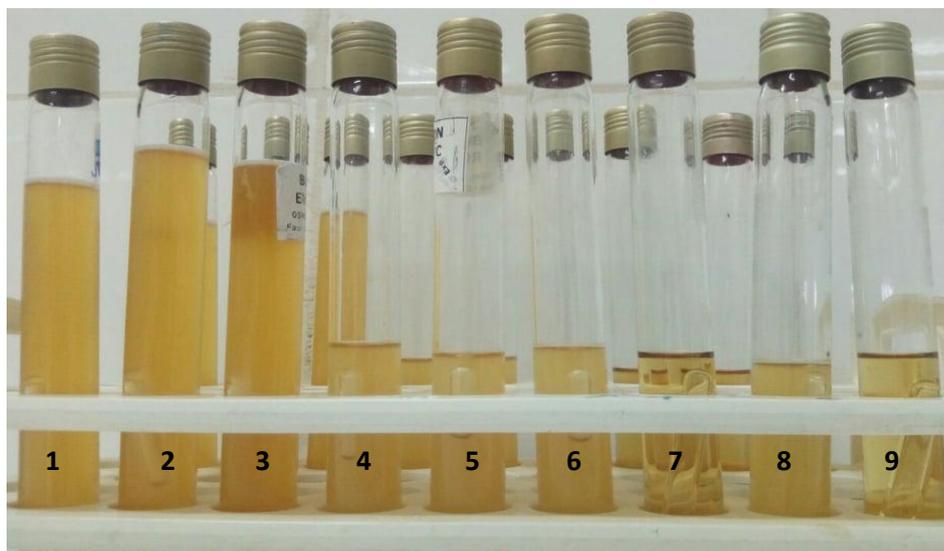


Figure 10. Test présomptif dans le bouillon LST à simple et à double concentration.

1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 : gaz + ; 7, 9 : gaz -

Les résultats obtenus de dénombrement d'*E. Coli* sont illustrés dans le tableau VII.

Tableau VII. Tableau récapitulatif montrant les résultats du dénombrement par la méthode du NPP pour 3 tubes, obtenus à la recherche d'*E. coli*.

Échantillon	1 ^{ère} dilution (10 ⁻²)	2 ^{ème} dilution (10 ⁻²)	3 ^{ème} dilution (10 ⁻²)	Nombre en UFC/g
1	--- (0)	--- (0)	--- (0)	Abs
2	--- (0)	--- (0)	--- (0)	Abs
3	+++ (3)	+++ (3)	--- (0)	2,4·10 ⁴
4	+++ (3)	+-- (2)	--- (0)	3,9·10 ³
5	--- (0)	--- (0)	--- (0)	Abs
6	--- (0)	--- (0)	--- (0)	Abs
7	+-- (1)	--- (0)	--- (0)	7·10 ²
8	--- (0)	--- (0)	--- (0)	Abs

Abs : Absence, **UFC** : unité formant colonie. + : résultat positif, - : résultat négatif.

Afin de confirmer la présence d'*E. coli*, qui est caractérisée par sa capacité à dégrader le tryptophane en indole par l'intermédiaire d'une tryptophanase, la recherche de l'indole produit a été révélée par l'ajoute de réactif de Kovacs.

La figure 11 montre l'apparition d'une teinte rouge dans des bouillons d'eau peptonée exempte d'indole, indiquant la présence de l'indole et confirme ainsi la présence d'*E. Coli*.



Figure 11. Test de conformation de la présence d'*E. coli* montrant la présence de l'indole traduit par l'anneau rouge apparu.

2.2. Recherche des salmonelles

Les *Salmonella* recherchées après le pré-enrichissement et bien l'enrichissement n'ont pas été retrouvées dans les cultures sélectives sur la gélose Bismuth chez les huit échantillons étudiés. La figure 12 montre que la culture à partir 0.1 ml le bouillon RVS de l'échantillon K7 ne contient aucune colonie.



Figure 12. Culture sélectif sur gélose Bismuth Sulfite.

2.3. Recherche de *Staphylococcus aureus*

Pour les *Staphylococcus aureus*, nous avons observé son absence dans les huit échantillons sur le milieu Baird Parker. D'une autre part la figure 13 ci-dessus représente la seule boîte de Pétri appartenant à l'échantillon 6 qui révèle une colonie susceptible d'être colonie caractéristique de *S. aureus* (des colonies noires entourées d'une zone claire).

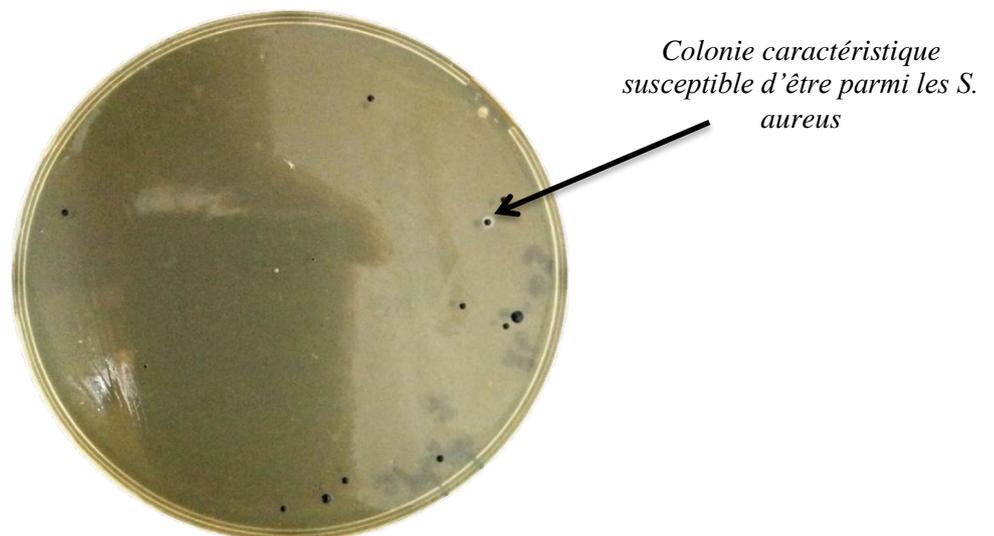


Figure 13. Isolement sélectif des *S. aureus* par culture sur la gélose Baird Parker

Pour la confirmation de l'identité de la colonie suspecte, cette dernière est ensemencée par stries sur la surface de la gélose ADN. Après 24h d'incubation une quantité d'une solution d'HCl à 1N est rajouté à la surface de la gélose. Le résultat positif se traduit par l'apparition d'une zone claire autour des colonies. Néanmoins, pour notre cas, l'absence d'une zone claire a indiquée que les colonies isolées n'appartiennent pas aux *S. aureus* (figure 14).



Figure 14. Test de l'ADNase sur la gélose ADN.

2.4. Dénombrement de la flore lactique sur MRS

Sur le milieu MRS à pH de 6.8, un dénombrement suivant la méthode de Joffin et Leyral (2006) a été effectué. Les résultats sont résumés dans le tableau VIII ci-dessous, dont, une charge importante en bactéries lactiques (entre 10^4 et 10^6 UFC/g) était observée dans cette étude, signe d'une bonne qualité microbiologique du produit.

Tableau VIII. Tableau récapitulatif des résultats de dénombrement de la flore lactique sur le milieu MRS.

Échantillons	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7	K8
UFC/g	$2 \cdot 10^6$	$2,72 \cdot 10^5$	$8,8 \cdot 10^5$	$1,40 \cdot 10^6$	$2,5 \cdot 10^6$	$2,0 \cdot 10^3$	$2,80 \cdot 10^4$	$8,0 \cdot 10^5$

UFC : unité formant colonie ; g : gramme.

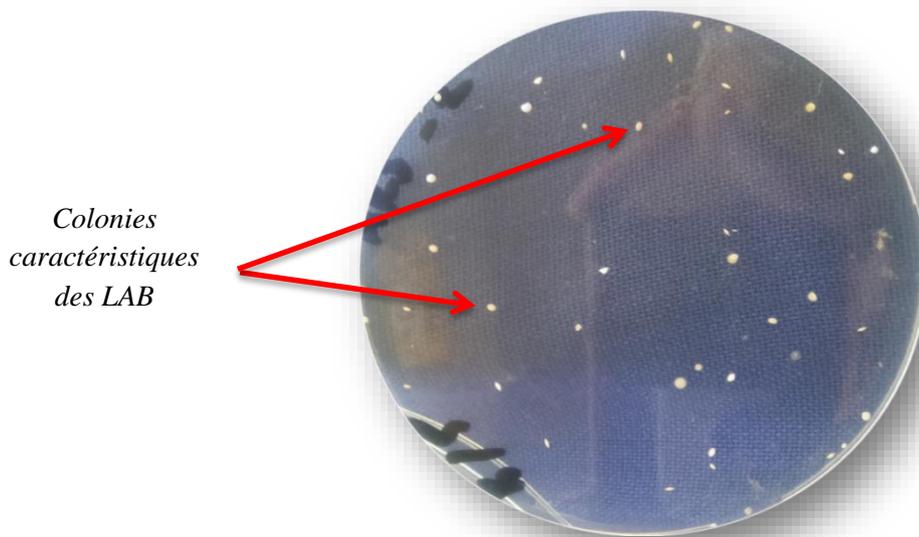


Figure 15. Dénombrement des bactéries lactique sur milieu MRS.

3. Identification et caractérisation des bactéries lactiques

3.1. Isolement et purification

A partir de plus de 65 colonies choisies à partir des huit échantillons qui ont subi un isolement sur les deux milieux (MRS et M17), 15 isolats ont été sélectionnés, purifiés et conservés autant que bactéries lactiques, dont ces dernières ont répondu aux critères de Gram (bactérie à Gram positif) et l'absence de la catalase.

3.2. Morphologie

3.2.1. Aspect macroscopique

L'observation macroscopique nous a permis de décrire les colonies obtenues sur milieu solide MRS ou M17; se sont des colonies petites tailles, de forme ronde ou lenticulaire, de couleur blanchâtre ou parfois jaunâtre claire.

Les repiquages successifs sur milieu MRS solide et bouillon a révélé des colonies de petite taille, de couleur blanchâtre ou laiteuses, ronde de surface lisse et au contour circulaire régulier. Dans les figures suivantes, on présente aspects d'espèces appartenant à trois genres.

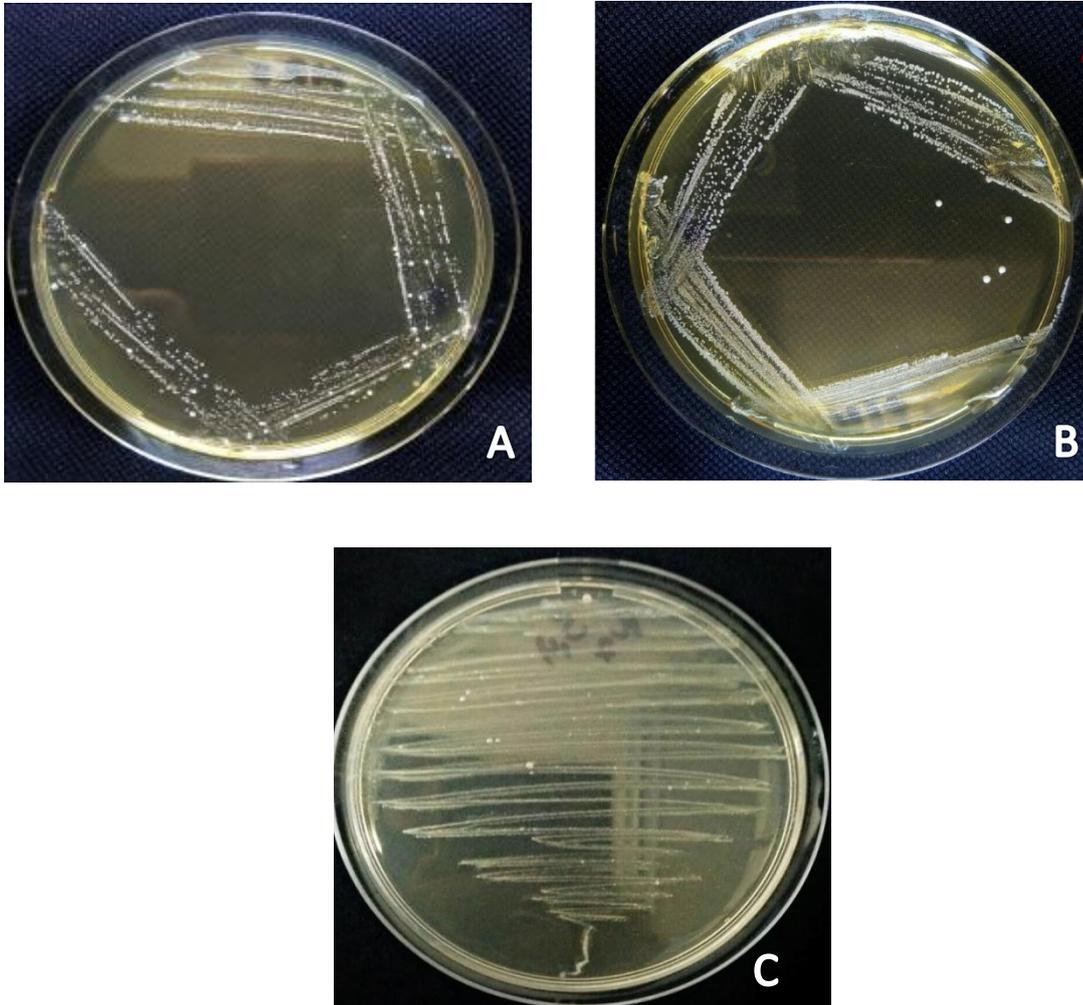


Figure 16. Aspect des colonies des bactéries lactiques sur milieu solide après incubation.

A : *Enterococcus* ; **B :** *Leuconostoc*. ; **C :** *Lactococcus*.

La croissance des bactéries en milieu liquide, se traduit sous forme d'une voile microbienne. Chez les cultures pures un précipât microbien apparaît sous forme de trouble homogène fumeux dans le milieu MRS liquide, ce trouble est concentré au fond du tube à la recherche des conditions anaérobiques de ces bactéries.

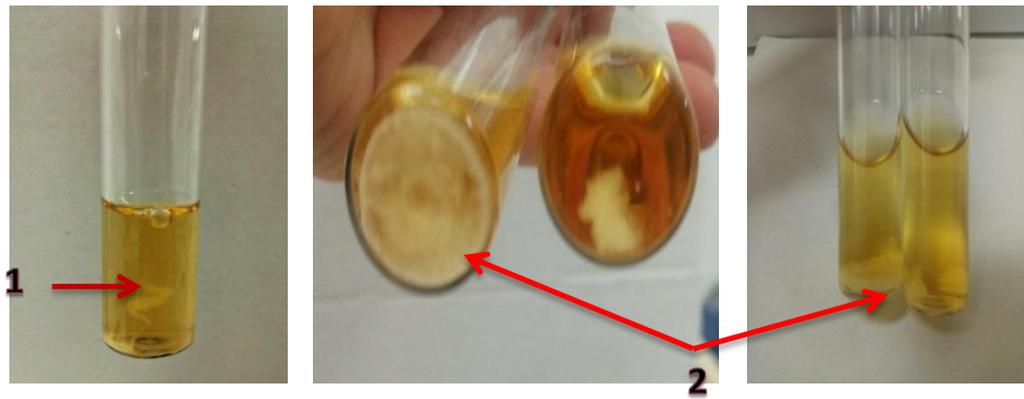
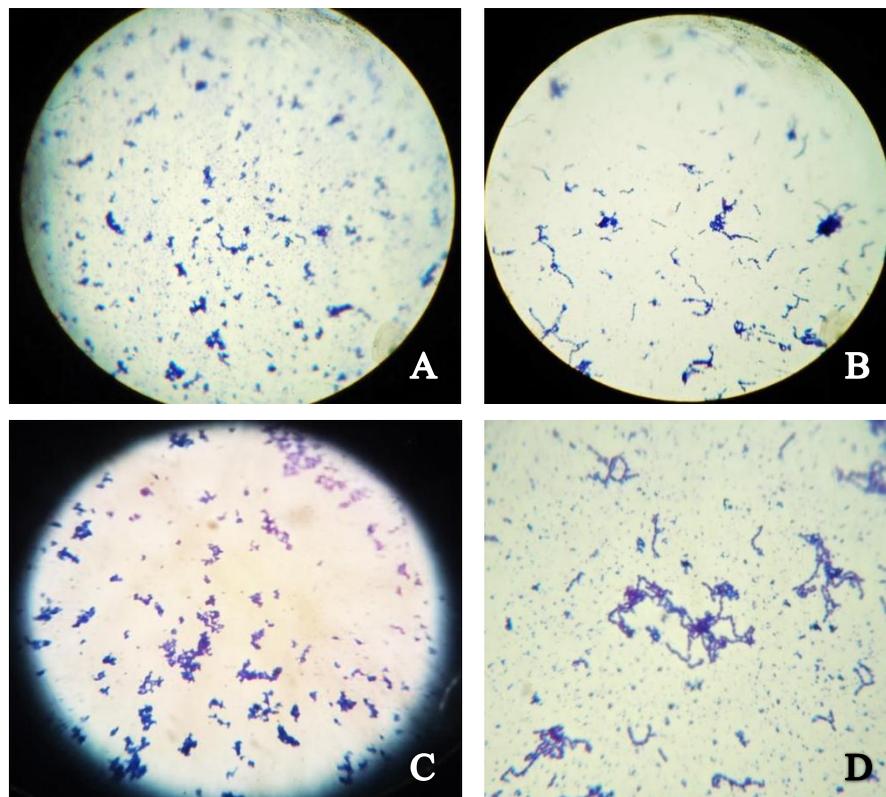


Figure 17. . Photos montrant la croissance bactérienne dans le milieu MRS liquide, sous forme d'une voile microbienne (1), de précipitât blanc (2).

3.2.2. Aspect microscopique

L'étude microscopique est basée sur les critères de la coloration de Gram. Cette observation a révélé que les bactéries isolées et purifiées sont à Gram positif, apparaissant sous différents aspects avec différents modes d'associations, ce qui forment l'écologie du produit étudié. Dans la suivante figure, l'examen microscopique de certaines souches visualisées sous microscope à l'objectif microscopique X100.



*Figure 18. Observation microscopique après coloration de Gram (Grossissement : X1000).
A et B : Lactococcus ; C : Leuconostoc. ; D : Enterococcus.*

3.2.3. Critères biochimiques et physiologiques

Au total de 15 isolats de bactéries lactiques, 03 genres ont été rapportés avec leurs pourcentages (figure 19). Ces isolats ont été identifiés au stade du genre en se basant sur des caractéristiques morphologiques, physiologiques et biochimiques.

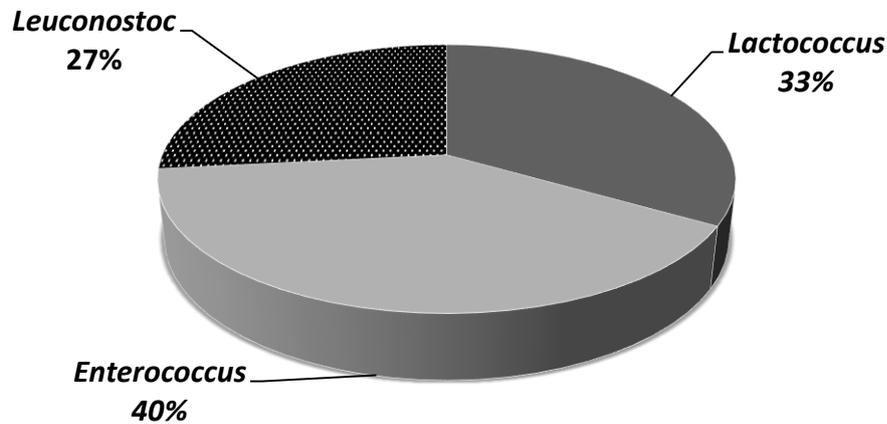


Figure 19. Distribution des genres de bactéries lactiques isolées à partir de différents échantillons de la Kamaria.

Après le test de pré-identification, les isolats ont subi le test de dégagement de CO₂ à partir du glucose (Figure 20). Parmi les 15 isolats lactiques, 10 sont homofermentaires et 5 sont des hétérofermentaires.

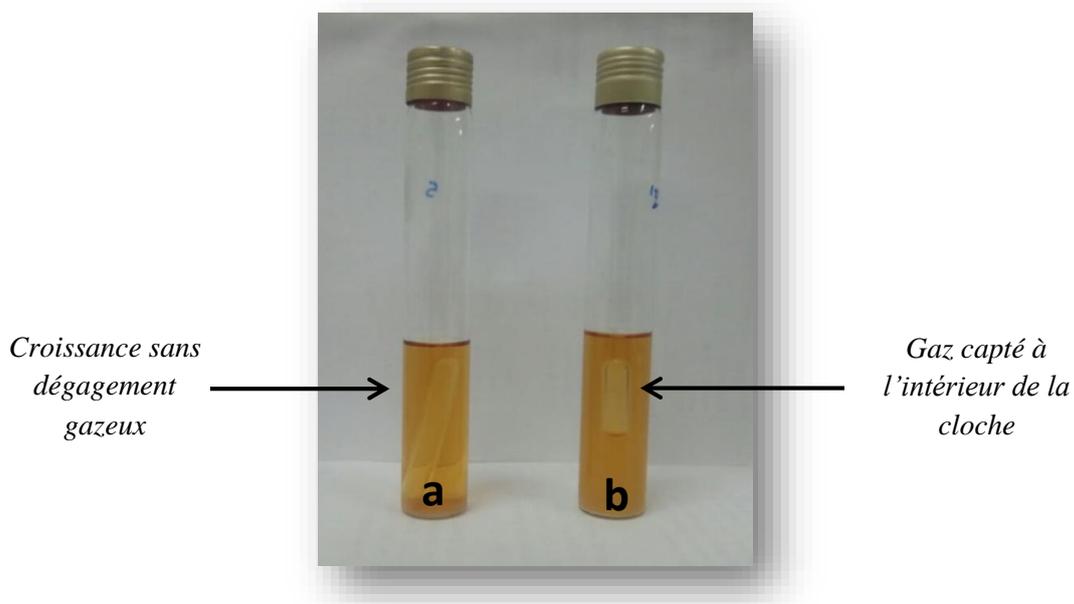


Figure 20. . Détermination du type fermentaire.

a : Souche homofermentaire ne produit pas de gaz.

b : Souche hétérofermentaire produit du gaz capté dans la cloche.

Les souches qui peuvent réduire le bleu de méthylène sont de type respiratoire aérobie, ils tirent leur oxygène à partir de bleu de méthylène qui va virer vers le transparent. Si les bactéries sont anaérobies, elles ne peuvent réduire que la solution à 1% du bleu (Moulay *et al.*, 2006).

Les résultats obtenus (figure 21), dans un lait écrémé stérilisé contenant le bleu de méthylène, ont montré que totalité des souches sont capables de croître en présence d'une concentration de du bleu de méthylène de 1%.

Dans Le lait de Sherman 3% montre que les souches K1S1, K2S2, K2S4, K4S7, K4S8, K4S9, K7S14, sont capables de pousser, alors que les souches K2S3, K3S5, K3S6, K7S15, K6S12, K7S13, K5S10 et K5S11 sont incapables de pousser en présence du bleu de méthylène à 3%.

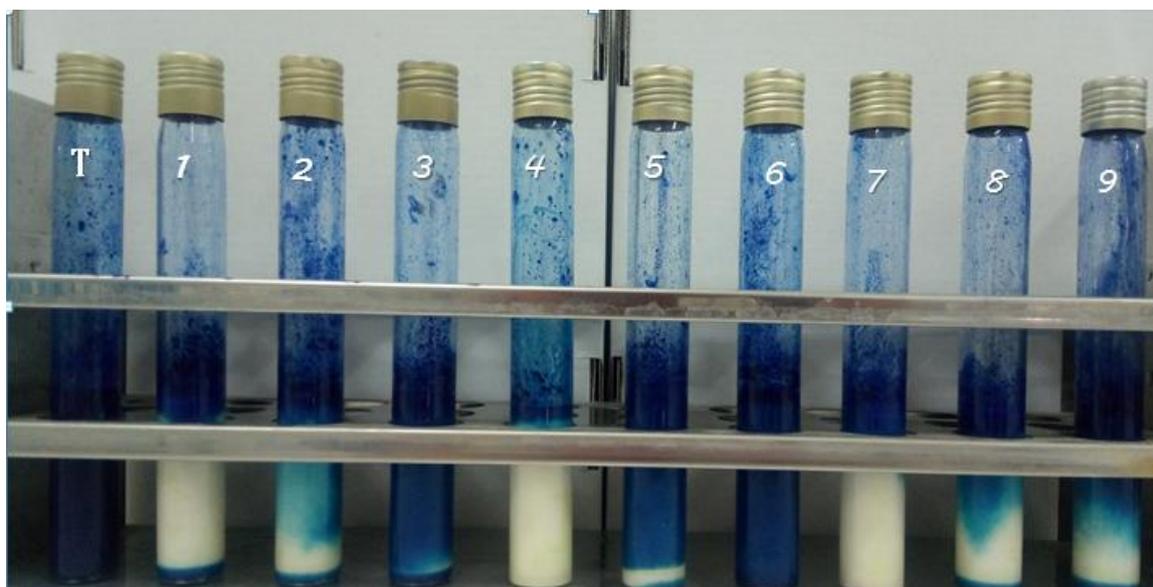


Figure 21. Test du lait de Sherman à 0.3 %.

1, 2, 4, 7, 8 et 9: Enterococcus ; 3, 5 et 6 : lactococcus ; T :Témoin.

Les variations de température d'incubation pour les différents isolats est un critère physiologique de sélection pour l'identification et la mise en évidence des aptitudes biotechnologique (Tableau VIII).

Les résultats de ce test permettent de distinguer entre souches mésophiles qui poussent à 30 °C, psychrophiles qui poussent à 15 °C et celles qui se développent à 45 °C et donc thermophiles.

Parmi les isolats testés, 5 présentent une croissance à 45 °C et sont donc qualifiés de bactéries thermophiles ; les isolats 10 restants sont donc mésophiles.

La plus part des souches sont thermorésistantes, où nous observons une croissance sur le bouillon MRS après un traitement thermique pendant 30 minutes à 63,5 °C. Cependant, seulement cinq souches parmi les 15 sont dépourvues de la thermorésistance (Tableau VIII).

Les cinq souches (K1S1, K2S2, K3S6, K4S7) parmi les coques lactiques sont homofermentaires, poussent à 15 °C, mais sont incapables de se développer à 45 °C, à 6,5% de NaCl et à pH 9,6. Elles se rapprochent du genre *Lactococcus*.

Le reste des coques homofermentaires (K2S3, K2S4, K4S8, K4S9, K7S14 et K7S15), ont la capacité de croître à 15 °C, à 45 °C, aux pH de 9,6, et à une concentration en NaCl de 6,5 % et capable de pousser dans 0.1% de lait de Sherman, sont considérées autant qu'entérocoques avec un pourcentage de 40%.

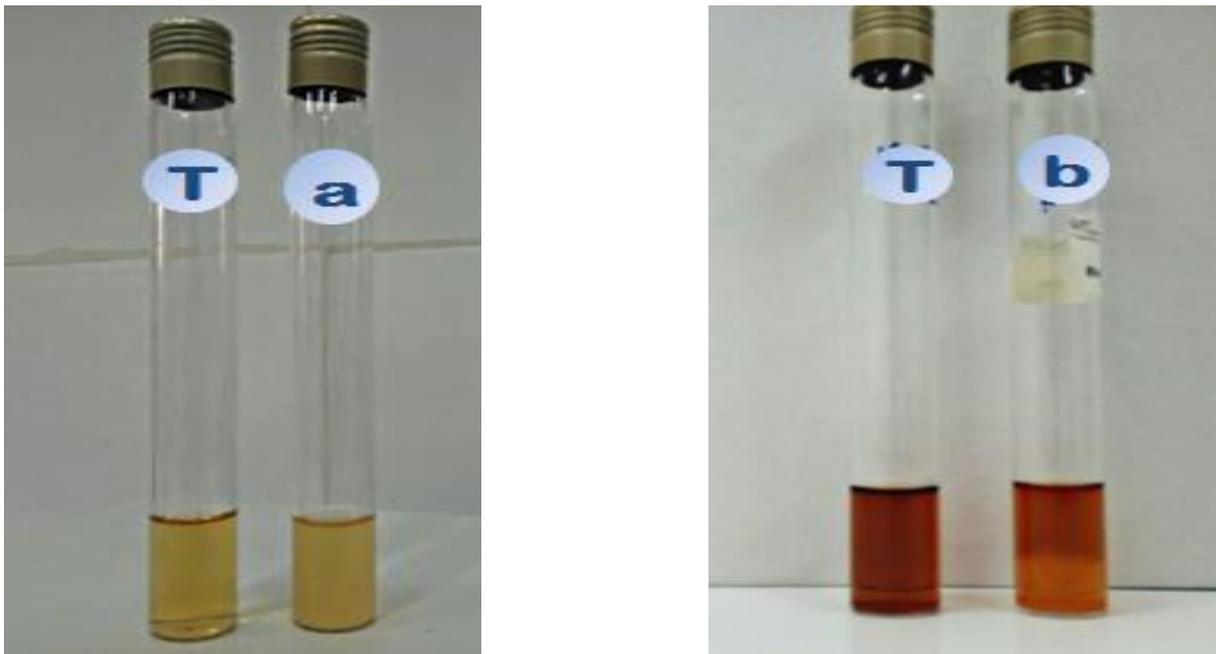


Figure 22. Croissance d'*Enterococcus* sur bouillons hypersalés et à pH 9,6.

a : NaCl 6.5 % ; b : pH 9.6 ; T : témoins.

Les souches suivantes : K5S10, K5S11, K6S12 et K6S13 sont des hétérofermentaires, poussent à 15 °C, mais pas à 45 °C, à pH 9,6 et à 6.5% de NaCl, elles ont été orientées vers le genre *Leuconostoc* (tableau VIII).

Tableau IX. Récapitulation des tests clés de l'identification des genres présents parmi les isolats lactiques.

	Genre présumé	Forme	pH 4.4	pH 9.6	NaC 4%	Na Cl 6.5%	CO ₂	Thermo	15 °C	45 °C	0.1 % Sher	0.3% Sher
K1S1	<i>Lactococcus</i>	Cocci en courtes chaines	-	+	+	-	Homofermentaire	-	+	-	+	+
K2S2	<i>Lactococcus</i>	Cocci en chainettes et amas	-	+	+	+	Homofermentaire	-	+	-	+	+
K2S3	<i>Enterococcus</i>	Cocci et amas	-	+	+	-	Homofermentaire	-	-	-	+	-
K2S4	<i>Enterococcus</i>	Cocci en longues chaines	-	+	+	+	Homofermentaire	+	+	+	+	+
K3S5	<i>Lactococcus</i>	Cocci isolés et en amas	-	+	+	-	Homofermentaire	-	-	-	+	-
K3S6	<i>Lactococcus</i>	Diplocoques	-	+	-	-	Homofermentaire	-	+	-	+	-
K4S7	<i>Lactococcus</i>	Cocci chainettes et amas	-	+	-	+	Homofermentaire	+	-	-	+	+
K4S8	<i>Enterococcus</i>	Cocci longues chaines	-	+	+	+	Homofermentaire	+	+	-	+	+
K4S9	<i>Enterococcus</i>	Diplocoques	-	+	+	+	Hétérofermentaire	-	+	+	+	+
K5S10	<i>Leuconostoc</i>	Diplocoques et chainettes	+	-	+	+	Hétérofermentaire	-	+	-	+	-
K5S11	<i>Leuconostoc</i>	Cocci en amas	+	-	+	+	Hétérofermentaire	-	+	-	+	-
K6S12	<i>Leuconostoc</i>	Cocci chainettes et amas	+	-	+	-	Hétérofermentaire	+	+	-	+	-
K6S13	<i>Leuconostoc</i>	Cocci longues chaines	+	+	+	+	Hétérofermentaire	-	+	+	+	-
K7S14	<i>Enterococcus</i>	Diplocoques et chainettes	+	+	+	-	Homofermentaire	-	+	+	+	+
K7S15	<i>Enterococcus</i>	Diplocoques	-	+	+	+	Homofermentaire	+	+	+	+	-

+ : test positif ; - : test **négatif** ; CO₂ : type fermentaire ; T° : température de croissance ; **Thermo** : thermorésistance ; **Sher** : test de Sherman.

3.2.4. Identification par galerie Api 50 CHL

Les résultats de la fermentation des hydrates de carbone sur la galerie API 50CHL,(figure 23) ont permis l'identification des 3 espèces : *Lactococcus lactis*, *Enterococcus faecium* et *Leuconostoc mesenteroides*.

Dans le tableau XI, on rapporte les profils de fermentation sur API 50 CHL des 8 souches isolées a été sélectionnées pour une identification approfondies avec les galeries API 50 CHL.

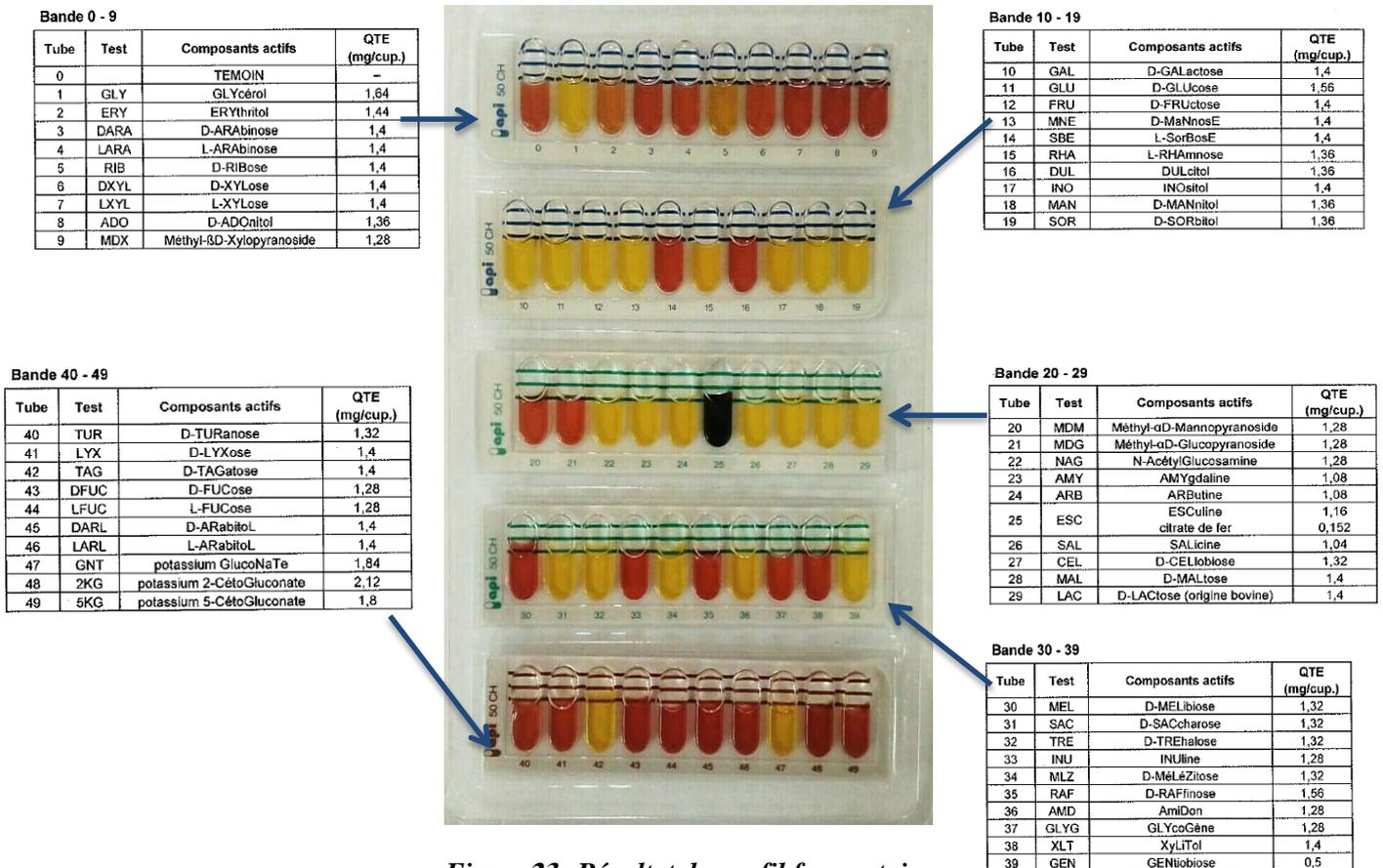


Figure 23. Résultat du profil fermentaire de l'espèce *Enterococcus faecium* de isolat (k7S14) sur API 50 CHL après 48 h d'incubation.

Tableau X. Profil fermentaire des isolats par les galeries API 50 CHL.

Sucres	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49		
	GLY	ERY	DARA	LARA	RIB	DXYL	ADO	ADO	MDX	GAL	GLU	FRU	MNE	SBE	RHA	DUL	INO	MAN	SOR	MDM	MDG	NAG	AMY	ARB	ESC	SAL	CEL	MAL	LAC	MEL	SAC	TRE	INU	MLZ	RAF	AMD	GLYG	XLT	GEN	TUR	LYX	TAG	DFUC	LFUC	DARL	LARL	GNT	2KG	5KG			
K2S2	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	Noir	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-					
K2S4	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	Noir	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-			
K3S5	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	Noir	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-			
K3S6	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	+	Noir	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-		
K5S10	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	Noir	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-		
K6S13	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	Noir	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
K7S14	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	Noir	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
K7S15	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	Noir	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

0: Témoin, **GLY**: Glycérol, **ERY**: Erythritol, **DARA**: D-Arabinose, **LARA**: L-Arabinose, **RIB**: D-Ribose, **DXYL**: D-Xylose, **LXYL**: L-Xylose, **ADO**: D-Adonitol, **MDX**: Méthyl-βD-Xylopyranoside, **GAL**: D-Galactose, **GLU**: D-Glucose, **FRU**: D-Fructose, **MNE**: D-Mannose, **SBE**: L-Sorbose, **RHA**: L-Rhamnose, **DUL**: Dulcitol, **INO**: Inositol, **MAN**: D-Mannitol, **SOR**: D-Sorbitol, **MDM**: Méthyl-αD-Mannopyranoside, **MDG**: Méthyl-αD-Glucopyranoside, **NAG**: N-Acétyleglucosamine, **AMY**: Amygdaline, **ARB**: Arbutine, **ESC**: Esculine, **SAL**: Salicine, **CEL**: D-Cellobiose, **MAL**: D-Maltose, **LAC**: D-Lactose, **MEL**: D-Mélibiose, **SAC**: D-Saccharose, **TRE**: D-Trehalose, **INU**: Inuline, **MLZ**: D-Mélizitose, **RAF**: D-Raffinose, **AMD**: Amidon, **GLYG**: Glycogène, **XLT**: Xylitol, **GEN**: Gentiobiose, **TUR**: D-Turanose, **LYX**: D-Lyxose, **TAG**: D-Tagatose, **DFUC**: D-Fucose, **LFUC**: L-Fucose, **DARL**: D-Arabitol, **LARL**: L-Arabitol, **GNT**: Gluconate, **2KG**: 2-CétoGluconate, **5KG**: 5-CétoGluconate.

3.4. Activités protéolytique et lipolytique

L'étude de l'activité protéolytique est effectuée sur milieu PCA additionné de 1, 2 et 3 % de lait écrémé. La présence de cette activité est mise en évidence par l'utilisation de la caséine du lait écrémé comme substrat. Les résultats obtenus ont montré que tous les isolats ont manifesté une activité protéolytique à 1, 2 et 3% (figure 24).

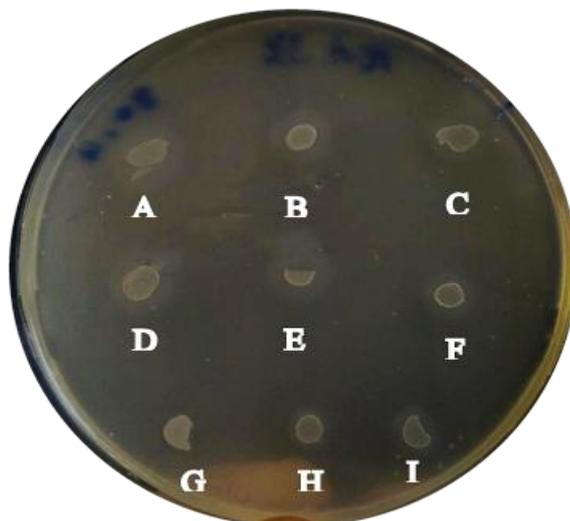


Figure 24 *Activité protéolytique des souches sur PCA à concentration de 2% de lait écrémé.*

A :K2S2 ; **B** :K2S4 ; **C** :K3S6 ; **D**:K5S10 ;**E**:K5S11; **F**:K6S12 ; **G**:k7S13 ; **H**: K7S14 ; **I** :K1S1.

Les résultats de l'activité lipolytique des souches lactiques sont reportés dans ci-après : figure 25 et (Tableau X). Il est bien clair qu'il n'y a aucune activité lipolytique.

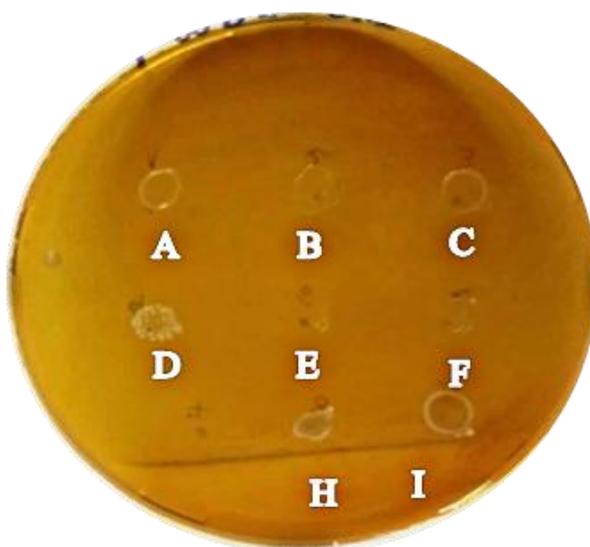


Figure 25 *Activité lipolytique des souches A, B, C, D, E, F, , H et I sur MRS tamponné additionné de Tween 80.*

A: K2S2 ; **B** : K2S4 ; **C** : K3S6 ; **D** : K5S10 ; **E**: K5S11; **F**: K6S12 ; **H** : K7S14 ; **I** :K1S1.

Tableau XI. Résultats des activités protéolytique et lipolytique pour l'ensemble des souches.

Souche	Activité protéolytique	Activité lipolytique
K1S1	++	-
K2S2	+++	-
K2S3	+++	-
K2S4	++	-
K3S5	+++	-
K3S6	+++	-
K4S7	+++	-
K4S8	++	-
K4S9	-	-
K5S10	++	-
K5S11	++	-
K6S12	+++	-
K6S13	++	-
K7S14	++	-
K7S15	-	-

-: absence d'un halo d'hydrolyse; +: halo < 10mm; ++ : halo de 10 mm à 20 mm; +++: halo > 20mm.

4. L'activité antagoniste

Pour le test de l'antagonisme des quelques souches appartenant aux différentes espèces dominantes, ont été testées pour leur capacité à inhiber les souches pathogènes tel *E. coli*, *S. aureus* et *Salmonella*.

Ces trois souches indicatrices sont connues par leur potentiel pathogène et qui prennent son place dans l'écologie microbienne du lait et produits laitiers.

4.1. La méthode de spot (Fleming *et al.*, 1975)

C'est une technique largement décrite dans la littérature notamment celle de Fleming *et al.* (1975) qui nous a permis de faire une première sélection de nos souches lactiques.

Les résultats de l'interaction obtenus (figure 26), révèlent la présence d'une zone claire au tour des souches de bactéries lactique de nos collection choisi ensemencées en touches.



Figure 26. Interaction des souches lactique avec les bactéries indicatrices par la méthode de spot.

Le tableau XII représente les résultats des interactions entre les bactéries lactique et les souches pathogènes : *E. coli*, *S. aureus* et *Salmonella*. Ce tableau montrent clairement que tous les souches utilisés avait d'activité inhibitrices contre les bactéries pathogènes. L'inhibitions est notée positive lorsque elle est supérieure à 1 mm (Schelinguer et Lucke, 1989).

En. faecium (K6S13) dévoile une importante activité antibactérienne envers *S. aureus* et *Salmonella* sp. et moindre contre *Escherichia coli* n'ont été pas inhibées parfaitement par notre souche lactique.

Pour la souche d'entérocoque leur spectre d'inhibition est moins important car le diamètre des zone variable entre 10 à 15 mm vis-à-vis les germe pathogène testées.

L. Lactis (K1S1) et *L. lactis* (S3K6) présentent même spectre d'inhibition cotre *E. coli* avec un diamètre d'inhibition de 11 mm. et cette dernière (S3K6) possède une zone

d'inhibition plus que (K1S1) vis-à-vis le germe *S. aureus*, il faut notée aussi que la souche K1S1 a spectre d'activité plus largue que la souche (K3S6) contre le germe *Salmonella* sp.

Tableau XII. Résultats de l'antagonisme de quelques souches lactiques par la méthode de spot.

<i>Souche</i>	<i>Diamètre de la zone d'inhibition en mm</i>			
	<i>Indicatrices</i> <i>Inhibitrices</i>	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Salmonella</i> Sp
K1S1 : <i>L. lactis</i>		11	12	16
K2S4 : <i>Ln.mesenteroïdes</i>		10	14	15
K3S6 : <i>L. Lactis.</i>		11	19	15
K5S10 : <i>En. Faecium.</i>		06	18	17
K6S13 : <i>En. Faecium.</i>		10	17	19

4.2. La méthode de diffusion en puits

Les résultats de l'interaction obtenus, révèlent la présence d'une zone claire au tour des souches de bactéries lactique de nos collection choisi (figure *). Le tableau XIII représente les résultats des interactions entre les bactéries lactique et les souches pathogènes : *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 et *Salmonella* sp.



Figure 27. Interaction des souches lactique avec les bactéries indicatrices par la méthode de diffusion sur agar.

La souche K3S6 (*L. Lactis*) montre les meilleurs résultats dont, elle a pu inhiber la croissance des trois souches pathogènes avec un diamètre d'inhibition allant de 06 à 12 mm.

Les souches de *Leuconostoc* (K5S10, K6S10) sélectionnées, présentent un spectre d'activité très proche vis-à-vis les trois germes testés .les longue des zones d'inhibitions varient de 05 à 10.

La souche K2S4 (*Ln. mesenteroïdes*) possède aussi un spectre d'activité vis à vis le germes pathogène ciblé avec des diamètres proche de 08 à 09 mm (tableau XIII).

Tableau XIII. Résultats de l'antagonisme de quelques souches lactiques par la méthode de diffusion sur agar.

<i>Souche</i>	<i>Diamètre de la zone d'inhibition en mm</i>		
<i>Indicatrices</i> <i>Inhibitrices</i>	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Salmonella</i> sp.
K1S1 : <i>L. lactis</i>	09	07	08
K2S4 : <i>Ln. mesenteroïdeS</i>	09	09	08
K3S6 : <i>L. Lactis.</i>	11	12	06
K5S10 : <i>En. Faecium.</i>	07	09	05
K6S13 : <i>En. Faecium.</i>	09	10	05

Discussion

A la lumière des résultats trouvés, le pH moyen des huit échantillons de *kemaria* était de l'ordre de 6.9. D'après Patart (1987), le pH des fromages à pâte molle est souvent élevé, et on remarque que les valeurs de pH obtenues sont proches par rapport aux résultats précédents rapportés par Bousnane et Djadi (2009), où ils ont enregistré chez la *Kemaria* fabriquée à partir du lait de vache à un pH moyenne de 6,8. Il est bien claire que le taux de pH de la *Kemaria* est nettement supérieur par rapport à beaucoup de fromages traditionnels tels : *Bouhezza* (pH = 4.70 ± 0.15) mentionné par Medjoud et al. (2017), *Djben* avec un pH de l'ordre de 4,42 cités par Guetouache et al. (2015) et la *Klila* avec une valeur de pH de 4.63 obtenue par Benlahcen et al (2017).

Le taux de pH obtenu est assez doux, car le fromage est fabriqué exclusivement par coagulation enzymatique du lait cru, de même que le temps d'égouttage est très court ce qui ne permet pas aux micro-organismes endogènes de se développer et de métaboliser le lactose. Par ailleurs, ce pH neutre risque de favoriser le développement des bactéries pathogènes qui présentent un taux de croissance maximum autour de ce pH (Patart, 1987). Pareillement, il est à noter que la valeur de pH est étroitement liée à la qualité du fromage : un pH de 5,0 correspond à un fromage de bonne qualité, alors qu'un pH supérieur à 5,2 correspond à un fromage qui se détériore plus rapidement qu'à un pH plus bas (Alais, 1984).

Pour l'acidité Dornic, nos résultats ont décelé à une moyenne de 11.25 °D, celle-ci est inférieure à celle rapportée pour la *Kemaria* fabriquée avec du lait de vache (20 °D) citée par Bousnane et Djadi (2009) et en comparaison aussi avec celle obtenue par Benderouich (2009) où la valeur enregistrée était de 17 °D. De même, notre moyenne était bien inférieure à celle notée chez le *Djben* avec plus que 90 °D (Guetouache et al., 2015) et chez *Bouhezza* avec 20.8 °D (Medjoud et al., 2017).

Il nous semblait que cette différence n'est pas très importante du point de vue propriétés organoleptiques. En même temps, elle peut être expliquée par le fait qu'il y a toujours plus d'acidité produite lors de la fermentation des deux fromages *Bouhezza* et *Djben* conduite par les bactéries lactiques (Gelais et al., 2002).

Les valeurs calculées pour l'extrait sec total de huit échantillons de *Kemaria* sont en moyenne de 47,6 g pour 100 g de fromage, ces résultats sont supérieurs à ceux obtenus par Bousnane et Djadi, (2009) et Benderouich, (2009) avec des valeurs proches, soient respectivement, 39,70 et 37,11 pour 100 g de la *Kemaria* du lait de vache. Selon Veisseyre (1979), les fromages frais au lait de vache sont toujours humides (40 à 80 g pour 100 g de fromage). Aussi, d'après Fredot, (2009), le taux d'extrait sec total (EST) varie d'un fromage à un autre et dépend d'une part de la composition

initiale du lait et d'une autre part des manières dont la coagulation et l'égouttage sont effectués. Nos valeurs sont comparables à celles données par Ramet (1989) (45 à 47 %) pour le fromage *Daani* à pâte molle consommé à l'état frais et est caractéristique de l'Égypte. Les valeurs obtenues étaient inférieures à celles rapportées par Barache et Bouatmane (2016) pour l'*Alatig* (52.9%), un fromage très répandu dans la région rurale de Boussaâda (Wilaya de M'sila).

Les échantillons présentaient des valeurs faibles en matière grasse dans les huit échantillons, l'intervalle des valeurs était entre 12 % à 16.5% qui est inférieur par rapport les valeurs signalées par Bousnane et Djadi (2009) ($20,50 \pm 1,00\%$) et également les taux enregistrés lors des travaux de Benderouich (2009) avec 23,07% de matière grasse dans la *Kemaria* à base du lait de vache. La différence entre ces valeurs peut s'expliquer par la différence de la composition en matière grasse du lait utilisé pour la fabrication, il faut souligner que le mode de fabrication, dont l'égouttage et le passage de la matière grasse vers le lactosérum peut engendrer la diminution de la quantité de la MG dans le fromage. Lors de la formation du caillé, la MG reste entravée dans le réseau protéique, les pertes de matière grasse peuvent atteindre de 4 à 20 % de la teneur de MG initiale. L'importance des pertes dépend de la taille des globules gras, à faible poids moléculaires, ces derniers sont moins susceptibles d'être retenus dans gel mais seront éliminés dans le lactosérum (Vingola, 2002). Pour la classification de nos échantillons de *Kemaria* à base de lait cru de vache selon les normes du codex alimentaire "Codex Stan A-6-1978" (Annexes), ces échantillons appartiennent à la catégorie des fromages à pâte demi-molle, mi-gras (Gras/Sec compris entre 25 et 45 %) et frais.

La matière grasse intervient dans la qualité organoleptique, contribue au développement d'arômes et la saveur du fait qu'elle est une source de composés aromatiques liposolubles (Gelais et al., 2002).

Concernant la variation de la teneur protéique de la *Kemaria* mesurée par la méthode de Lowry, les échantillons présentaient des taux protéiques plus bas par rapport la norme. Nos taux trouvés sont également inférieurs à celles données par Bousnane et Djadi (2009) où ils signalaient des valeurs de $4,76 \pm 0,23$ g pour 100 g de *Kemaria*. Cette différence pourra être due à la différence en composition des laits utilisés et ses paramètres physico-chimiques qui dépendent fortement de plusieurs facteurs pouvant les influencer, comme la zone géographique et l'environnement ainsi que les différences entre les élevages ont ici une très grande importance qui pourra expliquer ces taux bas. Les caractéristiques physicochimiques des laits crus dépendent aussi de la race des animaux et de leur alimentation en stades de lactation. (Kamoun, 1994 ; Poznanski et al., 2004).

Vu qu'il n'y a beaucoup d'études ayant intéressée sur l'étude de *Kemaria* de vache, il est donc difficile de comparer nos résultats à d'autre. Les variations trouvées dans les paramètres

physicochimiques de cette étude reflètent bien le fait que la *Kemraia* reste un fromage frais traditionnel aux caractéristiques indéfinies et inconstantes, cela est dû aux méthodes artisanales utilisées pour sa préparation (Salmeron *et al.*, 2002), les caractéristiques physicochimiques des fromages dépendent de celles du lait cru qui dépendent à leurs tour de l'espèce et la race des animaux et de alimentation (Poznanski *et al.*, 2004).

La confirmation de la présence d'*Escherichia coli* est réalisée sur bouillon d'eau peptonée exempte d'indole, la présence d'un anneau rouge suite à l'ajout de réactif Kovacs indique la présence de ce germe. Les résultats obtenus montrent son absence sauf pour les trois (3) échantillons 3, 4 et échantillon 7, dont, la charge enregistrée était de $2,4.10^4$ UFC/g, $3,9.10^3$ UFC/g et 7.10^2 UFC/g, respectivement. Il se peut qu'il y ait eu une prolifération microbienne favorisée par une baisse d'acidité de la pâte fromagère de kemaria créant un environnement favorable pour la croissance microbienne, cette diminution d'acidité est confirmée par l'analyse physicochimique de ce fromage.

Selon les normes du journal officiel de la république algérienne (JORA) N°39 (Annexe I), la charge des *E. coli* de fromage à base du lait cru de nos trois échantillons sont situés entre la limite de satisfaction 7.10^2 et $3,9.10^3$ UFC/g pour K7 et K3 et dans la limite d'acceptabilité pour K1 ($2.4.10^4$ UFC/g), de ce fait, ces échantillons sont considérés autant que fromages d'une qualité acceptable par rapport à la présence d'*E. coli*. La contamination par cette dernière peut être due à une multiplication de ces germes initialement présents dans le lait cru utilisé dans la fabrication du ce fromage. Ou bien suivant l'utilisation de gésier de poulet utilisé pour la coagulation de lait et même les ustensiles souillés utilisés lors de la fabrication peuvent être à l'origine de cette contamination.

Les staphylocoques présumés pathogènes et les salmonelles sont totalement absents dans tous les échantillons analysés ce qui est conforme à la réglementation algérienne. Cette absence est revenue à l'hygiène liée au lait cru utilisé due la traite jusqu'à la fabrication de ce fromage et ça reflète la bonne santé relative des vaches, et notamment l'absence d'infection des mamelles par ces germes (Vignola, 2002).

En considérant ces propos et l'ensemble des résultats obtenus, il nous semble pouvoir conclure que, pour le type et la quantité de microorganismes rencontrés, la qualité hygiénique du fromage de *kemaria* produit artisanalement est satisfaisante.

Le dénombrement de la flore lactique sur MRS dévoile une richesse en bactéries lactiques allant de $2,0.10^3$ jusqu'à $2,5.10^6$ UFC/g, une valeur proche e à celles obtenues par Benlahcen.*et al.*(2017) dans le fromage traditionnelle *Klila*.

Quinze (15) souches de bactéries lactiques ont été isolées et purifiées du fromage traditionnel *Kemaria*. Les souches ont été cultivées et isolées sur milieu MRS et M17 du fait des exigences nutritionnelles des bactéries lactiques, les milieux de cultures doivent être riche en sucres, en matières azotées et surtout en facteurs de croissances (Pilet *et al.*, 2005).

L'étude des principaux caractères morphologique, biochimiques et physiologiques ont montré une diversité de genres et d'espèces isolées à partir du ce types de fromage. Les espères des bactéries lactiques détectées dépendent essentiellement de la nature de lait cru utilisé pour la fabrication de ce fromage et les condition d'analyse (Saidi *et al.*, 2002).

Les résultats d'identification de cette étude montrent une présence majoritaire de coques et l'absence des bâtonnets. Alors que la distribution des genres en pourcentages expose la dominance du genre *Enterococcus* occupent un pourcentage important (40%), suivi des *Lactococcus* avec 33%, et ensuite arrivant les *Leuconostoc* (27%).

La flore dominante est représentée par les entérocoques (40%), ce résultat était également obtenu par Abdi *et al.* (2006). Les souche isolées à partir de "*Lighthaven*", un fromage iranien fabriqué à partir du lait de brebis, étaient apparues macroscopiquement sur milieu M17 solide autant que colonies bombées, circulaires, à surface lisse et de couleur blanche. Bien que, l'aspect microscopique des souches après coloration de Gram à révélé des coque associées en deux ou en court chaine (Franz, 2003).

Les entérocoque poussent dans les condition hostile, en présence de 6,5% NaCl, à pH 9.6, croissance à 45°C et survivant généralement 30 min à 60 °C (Stiles et Holzapfel, 1997 ; Larpent *et al.*, 1997). Quant à la dominance du genre *Enterococcus*, elle peut être due aux mauvaises conditions de la traite et aussi à la résistance du germe à ces conditions (Garvie, 1986). D'après, Giraffa (2003), les entérocoques doivent être considérés comme faisant partie de la flore microbienne normale du lait cru. *E. faecalis* and *E. faecium* sont considérées des espèces d'origine fécale (Devriese *et al.*, 2006 ; Godfree *et al.*, 1997). Ainsi, Bekhouche *et al.*, (1989) lors d'isolement de bactéries lactiques à partir de lait de vache dans l'est algérien, ont dévoilé une distribution hétérogène avec une grande fréquence de *Leuconostoc*, suivi de *Lactobacillus*, *Pediococcus* et *Streptococcus*. A la lumière des précédents résultats, la présence d'entérocoques dans la *Kamaria* avec une portion importante peut être à l'origine des fesses des vaches laitières, l'eau contaminée ou des équipements de la traite du lait et de fabrication du ce fromage.

Le second genre que nous avons recensé était *Lactococcus* avec un pourcentage de 33% du total. Les lactocoques, généralement retrouvées dans le lait cru, le fromage et dans d'autres produits laitiers (Stiles et Holzapfel, 1997), marquent leur présence dans la *Kemaria* avec une portion considérable dans souches lactiques isolées. Leur aspect macroscopique a montré que les *Lactococcus* développent sur les milieux M17 et MRS de petites colonies à contour régulier de couleur blanchâtre, lisses et largement bombées. Alors que macroscopiquement, sont des cellules à Gram positif, en forme de cocci sphérique, associée en paire, groupées en chaînettes plus ou moins longue (Teuber et Geis, 2006).

Selon Teuber et Geis, (2006) et Stiles et Holzapfel, (1997) les *Lactococcus* sont les bactéries homofermentaires, ne poussent pas à 45 °C et ne poussent en présence de 6.5% NaCl. Par ailleurs, pour nos souches appartenant de ce genre, la totalité d'entre elles sont rapprochées aux *Lactococcus lactis*. Les espèces de *Lactococcus lactis* et ces sous-espèces sont utilisées à une grande échelle dans l'industrie laitière (Garvie, 1984).

En dernier lieu du classement, Un pourcentage de 27% du genre *Leuconostoc* a été noté pour ce genre. Les *Leuconostoc* développent sur milieu MRS solide des petites colonies ponctiformes de couleur blanchâtre à pourtour régulier de 1 mm de diamètre. L'observation après coloration de Gram, indique qu'il s'agit des coques à Gram positif, ovoïdes en paire ou en chaînettes et considérés comme microorganismes sûrs (GRAS) (Ogier *et al.*, 2008). Ces bactéries fermentent le glucose avec la production de gaz (CO₂), ce sont des hétérofermentaires qui pourront se développer à 37 °C en poussant aussi en présence de 6,5 % NaCl.

Un résultat similaire a été décrit par Ouadghiri *et al.*, (2005) qui donne un pourcentage de 27% de *leuconostocs* isolés à partir d'un fromage marocain "*Jben*". Les tests de la dégradation des carbohydrates par les galeries Api 50 CHL, ont permis de rapprocher nos souches isolées au vu de leurs profils de fermentation à l'espèce *Leuconostoc mesenteroides*.

D'après Ouadghiri *et al.* (2013), 17 souches isolées à partir du *Jben* étaient identifiées comme *Ln. mesenteroides*, en outre, *Ln. mesenteroides* a été isolée également à partir du lait cru de vache (Bekhouche et Boulahrouf, 2005)

La présence des *Leuconostoc* a une relation importante avec la composition en bactéries lactiques, la composition du lait et l'alimentation.

L'absence de d'autres genres plus particulièrement les *Lactobacillus* peut être expliquée d'une part par leur activité qui se déclenche plus lors du stade d'affinage (genres hétérofermentaires responsables des arômes lors de l'affinage) ; d'autre part, par les conditions climatiques de cette

année ainsi que l'alimentation des animaux, ayant subi une longue période de sécheresse, cela aurait très bien pu influencer la densité de la population de ces deux genres.

D'après l'utilisation de la galerie biochimique API 50 CH a abouti à la caractérisation de 3 espèces lactiques ; 5 souches de *Lactococcus lactis*, 4 souches sont des *Leuconostoc mesenteroides*, et 6 appartenant à l'espèce *Enterococcus faecium*.

Il est à noter que l'identification phénotypique et physico-chimiques est très limitée en terme de précision, ce qui rend l'utilisation des techniques moléculaires plus appropriées en permettant une meilleure affiliation des isolats à leur réel taxon.

Le système protéolytique des bactéries lactiques est composé de protéases associées à la paroi cellulaire. Les peptides issus de la protéolyse sont ensuite dégradés par des endo-peptidases ou exopeptidases en acides aminés et en peptides courts (Yvon, 2006). L'activité protéolytique est également une caractéristique technologique importante chez les bactéries lactiques puisqu'elle leur confère la capacité de croître efficacement dans le lait, ce milieu étant déficient en sources azotées disponibles. Elle était reconnaissable par la présence d'un halo clair autour des colonies sur la gélose PCA additionnés de lait écrémé (Thapa *et al.*, 2006). Selon Vuilleumard (1986), la souche est dite protéolytique si elle présente une zone de lyse comprise entre 5 et 15 mm.

Les résultats de l'activité protéolytique de nos isolats ont montré un potentiel protéolytique moyen. Nos isolats dégradent les caséines trouvées dans le milieu de culture utilisé et selon les souches, le diamètre de la protéolyse était varié. La souche k1s1 de *L. lactis* a enregistré le pouvoir protéolytique le plus important avec des diamètres allant de 18 à 2.5 mm, alors que les souches appartenant aux genres *Leuconostoc* et *Enterococcus* sont jugées autant que moins protéolytiques avec des diamètres allant de 12 à 15 mm sauf que pour les deux isolats k4s9 et k7s15 appartenant au genre *Enterococcus*, où ils étaient considérés comme non protéolytiques, dont aucune zone de protéolyse n'a été approuvée. Ces résultats nous permettent de confirmer le caractère protéolytique des bactéries lactiques comme il a été rapporté par les travaux de Shirai *et al.* (2001), Latreche (2016) et François *et al.* (2007). Ces derniers auteurs ont montré que les bactéries lactiques sont incapables de synthétiser plusieurs acides aminés, mais sont pourtant bien adaptées à un environnement riche en protéines et pauvre en acides aminés libres ; comme le lait ; grâce à un système protéolytique bactérien complexe.

Le pouvoir lipolytique est d'une grande importance dans le développement du flaveur et la libération des acides gras mais il n'est pas très répandu chez les bactéries lactiques par rapport à d'autres groupes de bactéries (De Roissart et Luquet, 1994 ; Fox *et al.*, 2004), et c'est le cas des souches isolées, alors qu'elles partagent toutes la même propriété de ne pas avoir un pouvoir

lipolytique appréciable. Ces résultats sont en accords avec ceux obtenus par Guessas *et al.* (2012) où ils ont isolés des bactéries lactiques du beurre traditionnel qui n'avaient aucune activité lipolytique. De même, l'absence de ce pouvoir chez bactéries lactiques originaires du l'ben traditionnel dans les travaux de a été signalée (Meerad *et al.*, 2016). Nous rajoutons qu'a travers différentes publications scientifiques, les connaissances sur l'activité lipolytique des bactéries lactiques soient encore fragmentaire (Liu *et al.*, 2001).

Les résultats des deux tests de l'antagonisme ont montré que toutes les souches lactiques testées présentent des zones d'inhibition vis-à-vis des trois souches cibles. En effet, des zones d'inhibition allant de (06 mm à 11 mm) ont été obtenues vis-à-vis *E. coli* et de (07 mm à 19 mm) vis-à-vis *S. aureus* et de (5 mm à 19 mm) vis-à-vis *Salmonella* sp.

Selon plusieurs auteurs, cet effet antibactérien serait dû à l'effet combiné des substances antibactériennes produites par les bactéries lactiques comme les acides organiques essentiellement l'acide lactique, le peroxyde d'hydrogène, le diacétyle, ou encore des substances antibactériennes de nature protéique (bactériocines) (Antanasova *et al.*, 2003; Lozo *et al.*, 2007).

Conclusion et

perspectives

Conclusion et perspectives

Afin de valoriser et caractériser le fromage traditionnel *Kemaria* de vache de la wilaya de Ghardaïa, nous avons étudié ses qualités physico-chimique, hygiénique et microbiologique. À travers les résultats des paramètres de la physico-chimie obtenus il en ressort que ce produit a un pH proche de la neutralité (6,9) avec des valeurs proches pour les différents échantillons, mais avec l'acidité titrable est basse (11 °D) relative à une faible production de lactate par les bactéries lactiques présentes dans le fromage. La teneur moyenne en extrait sec enregistré était égale à 47,6 %, ainsi un taux de matière grasse et de protéines plus au moins bas et distinct entre les échantillons testés. Cette composition est liée à celle du lait cru utilisé ainsi que la méthode de fabrication de ce produit. Les valeurs des paramètres physico-chimiques obtenus ont permis de classer le fromage *kemaria* comme étant un fromage frais à pâte demi-molle et mi-gras.

Pour la qualité hygiénique, elle était généralement acceptable avec absence totale des *Staphylococcus* et *Salmonella*, néanmoins, la contamination par *E. coli* a été enregistrée chez certains échantillons, mais avec une faible portion, .Il ressort donc que nos échantillons de *kemaria* analysés sont à de qualité acceptable et conforme aux normes fixées par la législation algérienne.

Avec une flore lactique dominante au voisinage de 10^6 UFC/g, l'étude a permis d'attribuer ces 15 isolats représentatifs à 3 genres différents à savoir *Enterococcus*, *Lactococcus* et *Leuconostoc*. L'identification suivant les approches morphologiques, physiologiques a permis d'affilier les isolats aux espèces, *En. faecium* avec un pourcentage de 40%, *L. lactis* représentant 33% et enfin *Ln. mesenteroides* avec 27% du total.

Les résultats acquis après l'étude de l'activité protéolytique, on permet de reconstituer que la plupart des souches ont une bonne activité protéasique, alors qu'aucune de ces souches présentent une activité lipolytique.

L'activité antagonisme a montré l'effet inhibiteur de nos souches testent vis-à-vis des souches pathogènes indicatrices (*E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923 et *Salmonella* sp.) par deux méthodes avec un spectre d'inhibitions légèrement différent.

Enfin, les résultats ont permis de faire une caractérisation globale de la *Kemaria*, dévoilant des propriétés importantes d'un produit bénéfique au terme de composition nutritionnelle, sûre et d'une qualité acceptable à l'échelle hygiénique et aussi avec présence de bactérie lactiques généralement reconnu comme sûr pouvant fournir d'avantage en exerçant un effet bio-conservateur et fournissant d'effet bénéfique à la santé du consommateur.

A la lumière des résultats satisfaisants obtenus nous suggérons comme perspectives dans l'avenir notamment :

- En réalisant des répétitions des tests et études de la signification des résultats obtenus (étude statistique) ;
- En procédant à l'identification moléculaires des souches isolées ;
- En approfondissant l'étude de l'effet bio-conservateur *in vivo* et sur une large gamme de souches pathogènes d'origine différentes.

Références bibliographiques

A

- Ababsa, A. (2012).** Recherche de bactériocines produites par les bactéries lactiques du lait. Mémoire de magister. Université Ferhat Abbas, Sétif.
- Abakar, M. (2012).** Essai de fabrication d'un fromage frais traditionnel sénégalais à partir du lait de vache coagulé par la papaine naturelle. Mémoire de master. Université Cheikh ANTA DIOP de Dakar Ecole inter-états des sciences et médecine vétérinaires de Dakar (EISMV).
- Abd-El Salam, M. et Benkerroum N. (2006).** North African cheeses. In: Tamime AY, editor. Brined cheeses. London: Willey Blackwell Publishing. p 139–87.
- 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, El Harrach.
- Abdi, R., Sheikh-Zeinoddin, M., et Soleimani-Zad, S. (2006).** Identification of lactic acid bacteria isolated from traditional Iranian Lighvan cheese. Pakistan Journal of Biological Sciences, 9(1), 99-103.
- Abid, Z. (2015).** Étude de l'activité antimicrobienne des souches de bactéries lactiques isolées d'un produit laitier traditionnel Algérien «Jben ». Mémoire de master. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen.
- Achezegag, F.Z., Zerarka, F., et Merided, F. (2008).** Analyse microbiologique des produits laitiers (Le yaourt) .Mémoire en vue de l'obtention du diplôme d'études supérieures en biologie. Université Kasdi Merbah, Ouargla.
- Aissaoui zitoun, O. (2003).** Fabrication et caractéristique d'un fromage traditionnel algérien bouhezza .Thèse de magisters. INATAA , Constantine.
- Aissaoui Zitoun, O. (2004).** Fabrication et caractérisation d'un fromage traditionnelle algérien « Bouhezza ». Mémoire de Magister. Université Mentouri, 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.
- Alaoui Ismaili, M., Guilal, J., Hamama , A., Saidi ,B. et Zahar, M. (2016).** Identification de bactéries lactiques du lait cru de chamelle du sud du Maroc. The international Journal of multi-disciplinary sciences, 1, 81-92.
- Amio, T. J. et Lapointe-vignola, C. (2002).** Sciences et technologie du lait : Transformation du lait. Presses Intl. Polytechnique. Quebec. 600.
- Antonsson, M., Molin, G. et Ardo, Y. (2003)** Lactobacillus strains isolated from Danbo cheese as adjunct cultures in a cheese model system. Int J Food Microbiol 85, 159–169.

AOAC (1980). Official Methods of Analysis (13th ed). Association of Official Analytical Chemists. Washington DC, USA.

Axelsson, L. (2004). Lactic acid bacteria: classification and physiology. food science and technology-new york-marcel dekker-, 139, 1-66.

B

Badis, A., Guetarni, D., Moussa Boudjema, B., Henni, D.E., Tornadijo, M.E. et Kihal, M. (2004). Identification of cultivable of lactic acid bacteria isolated from algerian raw goat's milk and evaluation of their technological properties. Food microbiol. 3:72-73.

Badis, A., Guetarni, D., Boudjema, B. M., Henni, D. E. et Kihal, M. (2004). Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. Food Microbiology, 21(5), 579-588.

Balirada, A. (2003). Evaluation de la réponse au stress chez les bactéries lactiques appartenant aux genres *pediococcus* et *tetragenococcus*. Approches physiologiques et génétiques. Université de Bordeaux. P 174.

Barache, N., Bouatmane, S. et Bendjeddou, K. E. (2016). Etude de la qualité physicochimique et microbiologique de deux fromages artisanaux algériens Algafs et Alatig. mémoire Master.

Bekhouche, F. et Boulahrouf, A. (2005). études quantitative et qualitative des bactéries lactiques de lait cru produits par des vaches locales appartenant à six stations d'élevage de Constantine. Sciences & Technologie. C, Biotechnologies, (23), 38-45.

Belbeldi, A. (2012). Contribution à la caractérisation du fromage Bouhezza: Contenu lipidique et vitamines. Mémoire de Magister en Sciences Alimentaires. Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-alimentaires, Constantine.

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

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.

Bendanou, D. (1931). L'industrie beurrière chez les pasteurs nomades du sud-algérien. le lait, 11(106), 570-579.

Benderouich, B. (2009). La kémaria: un produit du terroir à valoriser, mémoire d'ingénieur, université Kasdi Merbah. Ouargla, Algérie.

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.

Bendimerad, N., Kihal, M. et Berthier, F. (2012). Isolation, identification, and technological characterization of wild leuconostocs and lactococci for traditional Raib type milk fermentation. Dairy science & technology, 92(3), 249-264.

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.» (Doctoral dissertation).

Benhadj, M. (2009). Intérêt des bactéries lactiques dans la conservation de la viande. Mémoire de Bouadjaib S. 2013. Etude physico chimique du produit laitier traditionnel du Sud algérien «Jben» recherche du pouvoir antimicrobien des bactéries lactiques. Mémoire Master. Université de Tlemcen.

Benkerroum, N. et Tamime, A. Y. (2004). Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (Iben, jben and smen) to small industrial scale. *Food Microbiology*, 21(4), 399-413.

Benlahcen, K., Mahamedi, A. E., Djellid, Y., Sadeki, I. F. et kihal, M. (2017). Microbiological Characterization Of Algerian Traditional Cheese "Klila". *Journal of Purity, Utility Reaction and Environment*, 6,1-9.

Berradia, A. (2016). Isolement, purification et identification des bactéries lactiques à partir de lait cru de chèvre. Mémoire de master en biologie, Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem.

Björkroth, J., Dicks Leon, M.T., Endo Akihito .et Holzapfel Wilhelm, H. (2014). The genus *Leuconostoc*, Lactic Acid Bacteria, Biodiversity and Taxonomy. John Wiley et Sons, Ltd, 391-404.

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

Bousnane, M. et Djadi, O . (2009).Caractérisation d'un fromage traditionnel algérien « takammerite »de la région de Ghardaïa. Mémoire d'ingénieur d'état en industrie agroalimentaire .Université Mentouri, Constantine.

C

Cai, Y., Yang, J., Pang, H., et Kitahara, M. (2010). *Lactococcus fujiensis* sp. nov., a lactic acid bacterium isolated from vegetable matter. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 61(7), 1590-1594.

Cakmakci, S., Dagdemir, E., Hayaloglu, A. A., Gurses, M. et Gundogdu, E. (2008). Influence of ripening container on the lactic acid bacteria population in Tulum cheese. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(3), 293-299.

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

Chye, F.Y., Abdullah, A. et Ayob, M.K. (2004). Bacteriological quality and safety of raw milk in Malaysia. *Food Microbiol*, 21,535–541.

Cuq, J.L. (2007). Microbiologie Alimentaire. Edition Sciences et Techniques du Languedoc. Université de Montpellier. pp: 20-25.

D

De Man, J. C., Rogosa, M. et Sharpe, M. E. (1960). A medium for the cultivation of lactobacilli. J. appl. Bact. 23 (1), 130-135.

Devriese ,L., Baele, M .et Butaye, P. (2006). The Genus *Enterococcus* : Taxonomy. In : Dworkin M, Falkow S, Schleifer K-H & Stackebrandt E. Prokaryotes 3rd edition Volume 4 : *Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria*. Springer Science+Business Media, LLC. USA. PP 163–174.

Djeddi, M. et Chabane, A. (2014). Les bactéries lactiques en alimentation rôle biotechnologique et Djellab ,M.et Kadri S. (2010). De Roissard H. Luquet F.M. (1994). Bactéries lactiques ,aspect fondamentaux et technologiques. Vol 1. Loriga. Paris. P 589.

Djoughri, K. et Madani, S. (2015). Etude microbiologique d'un produit laitier fermenté traditionnel (Jben) : isolement et identification des bactéries lactiques. Mémoire de master. Université kasdi merbah, d'Ourgla.

Drider, D., & Prevost, H. (2009). Bactéries lactiques: physiologie, métabolisme, génomique et applications industrielles. Economica.

Du Toit, M., Huch, M. ,Cho, G.S. et Franz C M.A.P. (2014). The genus *Streptococcus*, In : Lactic Acid Bacteria, Biodiversity and Taxonomy. John Wiley et Sons, Ltd, 454-505.

E

Eck, A . et Gillis, J.C. (2006). Le fromage. 3ème Edition : Tec et Doc, Lavoisier. Paris.

El-Ghaish, S., Ahmadova, A., Hadji-Sfaxi, I., El-Mecherfi, K.E., Bazukyan, I., Choiset, I., Rabesona, H., Sitohy, M., Popov, Y. G., Kuliev, A.A., Mozzi, F., Chobert, J. M. et Haertlé, T. (2011). Potential use of lactic bacteria for reduction of allergenicity and for longer conservation of fermented foods. Trends in Food Sci. Technol, 22,509-516.

Ennadir, J., Hassikou ,R., Al Askari, G., Arahou, M., Bouazza ,F., Amallah ,L., Amine S.A.et Khedid ,K. (2014). Caractérisation phénotypique et génotypique des bactéries lactiques isolées des farines de blé d'origine. J. Mater. Environ. Sci., 5 (4) : 1125-1132.

F

F.A.O, (1998). Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Rome(Italie): Alimentation et nutrition. ISBN, 28, 92-205.

FAO/OMS. (1996). Codex Alimentarius. N°A-6-1978. Code de principes concernant le lait et fermentation. Dairy Sci Technol. 92, 249–64.

Fotou, k ., TZORZ, A., Voidarou, Ch., Alexopoulos, A ., Plessas, S .,Avgeris , I .,Bezirtglou, E ., Akrida-Demertzi, k .et Demertzi, P.G. (2011): Isolation of Microbiol pathogens subclinical

mastitis from raw sheep's milk of Epuris (Greece) and their role in its hygiene .*Anaerobe* ,17, 315-319.

Francois, Z. N., El Hoda, N., Florence, F. A., Paul, M. F., Felicite, T. M., et El Soda, M. (2007). Biochemical properties of some thermophilic Lactic Acid Bacteria strains from traditional fermented milk relevant to their technological performance as starter culture. *Biotechnology*, 6(1), 14-21.

Franz, C. M., Stiles, M. E., Schleifer, K. H., et Holzapfel, W. H. (2003). Enterococci in foods—a conundrum for food safety. *International journal of food microbiology*, 88(2-3), 105-122.

Franz, C.M.A.P., Vancanneyt, M. et Vandemeulebroecke, K. (2006) *Pediococcus stilesii* sp. nov., isolated from maize grains. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*56 : 329–33.

Fredot. (2009). Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. Edition : TEC et DOC, Lavoisier, Paris, France, 397p.

G

Garvie, E. I. (1984). Taxonomy and identification of bacteria important in cheese and fermented dairy products. *Advances in the microbiology and biochemistry of cheese and fermented milk*, 35-66.

Garvie, E.I. (1986). Genus *Leuconostoc* van Tieghem 1878, 198 AL emended mut char.

Gelais-St. D, Tirard-C.P. Belonger G, Couture, R. et Drapeau, R. (2002). Chapitre 6: Fromage. Pp 349 à 412. *Science et Technologie du lait, transformation du lait*. Coord. VIGNOLA. Edition : école polytechnique. 600 p.

Giraffa, G. (2003). Functionality of enterococci in dairy products. *Int. J. Food. Microbiol.* 88 : 215–22.

Gonzalez, L., Sandoval, H., Sacristan, N., Castro, J.M., Fresno, J.M. et Tornadijo, M.E. (2007). Identification of lactic acid bacteria isolated from Genestoso cheese throughout ripening and study of their antimicrobial activity. *Food Control*, 18,716-722.

Gosta, M. (1995). Lait long conservation. In *manuel de transformation du lait, Tétra Packs Processing Systems A.B*, Sweden.

Guessas, B., Adjoudj, F., Hadadji, M. et Kihal, M. (2012). Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from *Dhan*, a Traditional Butter and Their Major Technological Traits. *World Appl. Sci. J.* 17(4), 480 -488.

Guetouache, M. et Guessas, B. (2015). Characterization and identification of lactic acid bacteria isolated from traditional cheese (Klila) prepared from cow's milk. *Afr J Microbiol Res*, 9(2), 71-77.

GUIRAUD, J. P. (2003). Microbiologie alimentaire. Technique et ingénierie, Paris : Dunod, série Agro-alimentaire, p. 387-433.

Gurira, O. Z. et Buys, E. M. (2005). Characterization and antimicrobial activity of *Pediococcus* species isolated from South African farm-style cheese. *Food Microbiology*, 22,159-168.

H

- Hallal, A. (2001).** Fromages traditionnels algérien. Quel avenir. Revue agroligne, 14, 43-47.
- Harrouz, W. et Oueld hadj youcef, s. (2007).** La filière lait :vers une nouvelle dimension de développement dans la vallée du M'Zab et Metlili. Mémoire Ing .ITAS, Ouargla.
- Hayaloglu, A. A., Guven, M. et Fox, P. F. (2002).** Microbiological, biochemical and technological properties of Turkish White cheese 'Beyaz Peynir'. International Dairy Journal, 12(8), 635-648.
- Hennine, Y. et Serièr, H. (2017).** Isolement et caractérisation des bactéries lactiques dans le smen traditionnel algérien.mémoire de master.univercité de Djelali bounama, khmisse maliana.
- Hilali, L., Khattabi, A., Nssarlah, N., Maliki, A. et Finance, C. (2002).** Isolement des nouvelles souches d'Actinomycètes productrices de substances antifongiques à partir du milieu naturel marocain. Rev. biol. Biotechnol., 2(1) : 49-53.
- Houbab, K.h. (2014).** Potentialité Technologique des batteries lactiques isolées du lait cru de chamelle. Memoire de magister biologie. Université Ahmed Ben Bella, Oran.
- Hucker. et Pederson. (1930).** 66 AL. In: Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M.E. & Holt, J.G. (eds),Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Baltimore: Williams & Wilkins Co., pp. 1071–5.

J

- Jeantet, R., Croyennec, T., Mahant, M., Schuck, P.,et Brulé G. (2008).** Les produits laitiers, 2^{ème}Edition: Tec et Doc, Lavoisier. Paris. PP: 1-9.
- J.O.R.A n°42. (2005).** Arrêté du 23 Janvier 2005. Rendant obligatoire une méthode de recherche et dénombrement des Staphylocoques dans les produits laitiers.
- J.O.R.A n°70 . (2004).** Arrêté 11 septembre 2004 rendant obligatoire une méthode de préparation des échantillons pour l'essai et les dilutions en vue de l'examen microbiologique.
- J.O.R.A n°39. (2017).** Arrêté du 2 juillet 2017. fixant les critères microbiologiques des denrées.

K

- Khaled, A. (2012).** Effet de traitements thermiques sur les propriétés fonctionnelles de fromages traditionnels : le cas des pâtes persillées. Agricultural sciences. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II.,French.
- Kim. (2014).** The genus Lactococcus, Lactic Acid Bacteria, Biodiversity and Taxonomy. John Wiley et Sons, Ltd. :P.430-443. UK.
- Kouame, S.M. (2013).** Contribution à la gestion des risques de contamination microbienne et diversité génotypique des espèces du genre Bifidobacterium isolées de la chaîne de production du lait local à Abidjan. Thèse de doctorat. Université Nangui Abrogoua .

Kubota, H., Tsuji, H., Matsuda, K., Kurakawa, T., Asahara, T. et Nojimoto, K. (2010). Detection of human intestinal catalase-negative Gram-positive cocci by rRNA-targeted reverse transcription-PCR. *Appl. Environ. Microbiol.*, 76, 5440–5451.

Karam N-E., Dellali, A. et Zadi-Karam, H. (2012). Activité lipolytique chez les bactéries lactiques Lipolytic Activity from Lactic Bacteria. *Renc. Rech. Ruminants*. 19,415.

L

Lahtinen, S., Ouwehand, A. C., Seppo, S. et Von Wright, A. (2012). Lactic Acid Bacteria microbiological and functional aspects, Fourth edition. Taylor et Francis Group, 13, 978-1.

Lairini, S., Beqqali, N., Bouslamti, R., Belkhou, R. et Zerrouq, F. (2014). Isolement des bactéries lactiques à partir des produits laitiers traditionnels Marocains et formulation d'un lait fermenté proche du Kéfir. *Afrique Science*. 10 (4), 267-277.

Latreche, B. (2016). Caractérisation des bactéries lactiques isolées du beurre cru, évaluation de leurs aptitudes technologiques et leur utilisation dans la fabrication de la crème sure.

Lelivre, L. (2012). Suivi de troupeau vétérinaire et transformation à la ferme : une opportunité supplémentaire. Thèse de doctorat. Université Claude-Bernard, Lyon I. les produits laitiers. Rome.

Leyral, G. et Vierling, É. (2007). Microbiologie et toxicologie des aliments: hygiène et sécurité alimentaires. 4e édition Biosciences et techniques. 87p.

Liu S. Q, Holland, R. et Crow, V.L. (2001). Purification and properties of intracellular Luquet, F. M., Corrieu, G., & Marteau, P., (2006). Bactéries lactiques et probiotiques. *Acta Endoscopica*, 36(3), 376-376.

Lozo, J., Jovicic, B., Kojic, M., Dalgalarondo, M., Chobert, J.M., Haertle T. et Topisirovic, L. (2007). Molecular characterisation of a novel Bacteriocin and an unusually large aggregation factor of lactobacillus paracasei subsp. Paracasei BGSJ2-8, a natural isolate from homemade cheese. *Current Microbiology*., 55 ,266-271.

M

Mahamedi, A. (2015). Etude des qualités hygiéniques, physico-chimique et microbiologiques des ferments et des beurres traditionnelles destinés à la communication dans différents régions d'Algérie. Thèse de magister, Université Ahmed Ben Bella, Oran.

Makhloufi, K. M. (2012) Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza. Thèse de doctorat. université de pierre et marie, curie.

Mami, A. (2013). Recherche des bactéries lactiques productrices de bactériocines à large spectre d'action vis-à-vis des germes appliqués dans les toxi-infections alimentaires en Algérie. Thèse de doctorat. Université Ahmed Ben Bella, Oran.

Mathara, J. M., Schillinger, U., Kutima, P. M., Mbugua, S. K., et Holzapfel, W. H. (2004). Isolation, identification and characterisation of the dominant microorganisms of kule naoto: the

Maasai traditional fermented milk in Kenya. *International journal of food microbiology*, 94(3), 269-278.

Mathieu, J. (1998). Ecole nationale des industries du lait et des viandes de la Roche-Sur-Foron. Initiation à la physico-chimie du lait. Edition. Tec et Doc. Lavoisier, Paris. pp : 12-210.

Mattarelli, P. et Biavati, B. (2014). The genera *Bifidobacterium*, *Parascardovia* and *Scardovia*. *Lactic Acid Bacteria, Biodiversity and Taxonomy*. John Wiley et Sons, Ltd. : P 509-541. UK.

Mayo, B., Aleksandrak –piekarczyk, T., Fernández, M., Kowalczyk, M., Alvarez-Martín, P. et Bardowski, J. (2010). Updates in the metabolism of lactic acid bacteria. *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria: Novel Applications* Blackwell Publishing ,3-34.

Mechai ,A. (2009). Isolement, caractérisation et purification de bactériocines produites par des bactéries lactiques autochtones : études physiologiques et biochimiques. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar, Annaba.

Mechai, A., Debabza, M. et Kirane, D. (2014). Screening of technological and probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional fermented milk products. *International Food Research Journal* 21(6), 2451-2457.

Medjoudj, H., Aouar, L., Zidoune, M. N., et Hayaloglu, A. A. (2017). Proteolysis, microbiology, volatiles and sensory evaluation of Algerian traditional cheese Bouhezza made using goat's raw milk. *International journal of food properties*, 20(sup3), S3246-S3265.

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

Mekentichi, Z. (2003). Qualité physicochimique et bactériologique d'un fromage traditionnel (Bouhezza).mémoired'ingénieur. Université de Batna.

Menasria,T. (2011). Isolement et caractérisation des souches lactiques productrices des bactériocines. Mémoire de magister. Université Djilali Liabes,Sidi Bel Abbes.

Merrad, A., Maiza, S., et Faradji-Hamma, S. E. (2016). Etude de propriétés technologiques de souches de bactéries lactiques originaires du l'ben traditionnel.

Mkrтчyan, H., Gibbons, S., Heidelberger, S., Zloh, M. et Limaki, H.K. (2010). Purification, characterization and identification of acidocin LCHV, an antimicrobial peptide produced by *Lactobacillus acidophilus* n.v. Er 317/402 strain narine. *Int.J. Antimicrobial Agents*, 35, 255-260.

Moreno, M. F., Sarantinopoulos, P., Tsakalidou, E., et De Vuyst, L. (2006). The role and application of enterococci in food and health. *International journal of food microbiology*, 106(1), 1-24.

Moulay, M., Benlahcen, K., Aggad, H. et Kihal, M. (2013). Diversity And Technological Properties Of Predominant Lactic Acid Bacteria Isolated From Algerian Raw Goat's Milk. *Advances in Environmental Biology*. 7 (6), 999- 1007.

Moumene, M. (2016). Isolement et identification des bactéries lactiques et étude de l'effet antagoniste vis-à-vis des germes pathogènes. Thèse de Doctorat en Sciences Biologiques. université de 8 mai 1945, Galma .

Mourad, K. et Nour-Eddine, K. (2006). Physicochemical and microbiological study of “shmen”, a traditional butter made from camel milk in the Sahara (Algeria): isolation and identification of lactic acid bacteria and yeasts. *Grasas y Aceites*, 57(2), 198-204.

N

Nouani, A., Dako, E., Morsli, A., Belhamiche, N., Belbraouet, S., Bellal, M.M.,Dadie, A.et Novel, G. (1993). Les bactéries lactiques. In Leveau J-Y et Bouix M. *Microbiologie industrielle : les microorganismes d'intérêt industriel*. Edition : Tec & Doc, Lavoisier. Paris, pp.170-330.

O

Ogier, J.-C., Casalta, E., Farrokh, C.et Saihi, A. (2008). Safety assessment of dairy microorganisms: the *Leuconostoc* genus. *Int. J. Food Microbiol.* 126, 286–90.

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

Ouadghiri, M. (2009). Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés « Lben » et « Jben » d'origine marocaine. thèse de doctorat. Université Mohammed V – AGDAL, Rabat, Maroc.

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

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.

P

Pernodet, G. (1987). Technologies comparee des differents types de caille. Fromage/coordonne par Andre Eck; comite de redaction, Andre Eck...[et al.].

Pilet, M.F., Magras, C. et Federighi, M. (2005). Bactéries lactiques. In Federighi M. *Bactériologie alimentaire : compendium d'hygiène des aliments*. 2e Edition : Economica, pp. 219-239.

Pougheon, S.et GOURSAUD, J. (2001). Le lait caractéristiques physicochimiques In DEBRY G., *Lait, nutrition et santé*, Tec et Doc, Paris ,6-566 pages.

Poznanski, E. L. I. S. A., Cavazza, A. G. O. S. T. I. N. O., Cappa, F. et 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.

R

Rahmoun, A. (2009). Evaluation de l'activité antimicrobienne des espèces de *Lactobacillus* isolée de lait cru de chèvre. Mémoire de magister. Université Ahmed Ben Bella. Oran.

Ramet, J. P. (1989). L'aptitude fromagère du lait de dromadaire. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 42(1), 105-111.

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

Roudaut, H. et Lefrancq, E. (2005). Alimentation théorique. Edition Sciences des Aliments.

S

Sabia, C., De Niederhäusern, S., Messi, P., Manicardi, G., Bondi, M. (2003). Bacteriocin-producing *Enterococcus casseliflavus* IM 416K1, a natural antagonist for control of *Listeria monocytogenes* in Italian sausages ("cacciatore"). *International Journal of Food Microbiology*. vol. 87, 173-179.

Sabia, C., Manicardi, G., Messi, P., De Niederhäusern, S. et Bondi, M. (2002). Enterocin 416K1, an antilisterial bacteriocin produced by *Enterococcus casseliflavus* IM 416K1 isolated from Italian sausages. *International Journal of Food Microbiology*, vol. 75, 163-170.

Sakili, D. et 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., et Barron, L. J. R. (2002). Effect of pasteurization and seasonal variations in the microflora of ewe's milk for cheesemaking. *Food Microbiology*, 19(2-3), 167-174.

Saoudi, Z. (2012). Caractérisation microbiologique et de la protéolyse du fromage traditionnel algérien « Bouhezza » de ferme. Mémoire de magister. Université Mentouri, Constantine.

Sawaya, W. N., Safi, W. J., Al-Shalhat, A. F. et Al-Mohammad, M. M. (1984). Chemical composition and nutritive value of goat milk. *Journal of Dairy Science*, 67(8), 1655-1659.

Shirai, K., Guerrero, I., Huerta, S., Saucedo, G., Castillo, A., Gonzalez, R. O. et Hall, G. M. (2001). Effect of initial glucose concentration and inoculation level of lactic acid bacteria in shrimp waste ensilation. *Enzyme and Microbial Technology*, 28(4-5), 446-452.

Stiles, M. E. et Holzapfel, W. H. (1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International journal of food microbiology*, 36(1), 1-29.

T

Tagg, J. R., Wescombe, P. A. et Burton, J. P. (2012). *Streptococcus* : A Brief Update on the Current Taxonomic Status of the Genus. In : *Lactic Acid Bacteria microbiological and functional aspects*, Fourth edition. Taylor et Francis Group, 13: 978-1-4398-3678-1. P 123-146. UK.

Tailliez, P. (2001). Mini-revue: les bactéries lactiques, ces êtres vivants apparus il y a près de 3 milliards d'années. *Le lait*, 81(1-2), 1-11.

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

Tayeb, I. D. O. U. I. (2008). Bactérie lactiques indigènes: Isolement, identification et propriétés technologiques: Effets probiotiques chez le poulet de chair ISA15, le lapin de souche locale et le rat Wistar (Doctoral dissertation, Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella).

Thapa, N., Pal, J. et Tamang, J. P. (2006). Phenotypic identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from traditionally processed fish products of the Eastern Himalayas. *International journal of food microbiology*, 107(1), 33-38.

Touati, K. (1990). Contribution à l'étude microbiologique et physico-chimique d'un fromage artisanal algérien "la klila". Mémoire d'ingénieur, INATAA, Constantine, Algérie.

V

Veisseyre, R. (1975). Technologie du lait: constitution, recolte, traitement et transformation du lait 3. 2ème édition. Maison Rustique. 697 p.

Vignola, C. (2002). Science et Technologie du Lait Transformation du Lait. Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada. pp. 3-600.

Vilain, A. C. (2010). Qu'est-ce que le lait ?. *Revue française d'allergologie*, 50(3), 124-127.

Von Wright, A. et Axelsson, L. (2012). Lactic acid bacteria: an introduction. Lahtinen, S., Ouwehand, AC, Salminen, S., von Wright, A.: Lactic acid bacteria. Microbiological and functional aspects. 4th edition, CRC Press, Boca Raton. SHERMAN J.M. 1937. The Streptococci. *Bacteriol Rev*, vol. 1, p. 3-97.

Vuillemard, J. C. (1986). Microbiologie des aliments. Evolution de l'activité protéolytique des bactéries lactiques. Tec et Doc, Lavoisier. Paris. 3, 1-65.

W

Walther, B., Schmid, A., Sieber, R. et Wehrmuller, K. (2008). Cheese in nutrition and health. *Dairy Sci. Technol.* 88, 389-405.

Whiley, R. A. et Hardie, J.M. (2009). Genus I. Streptococcus Rosenbach 1884, 22AL. In: De Vos, P.; Garrity, G., Jones, D. et al. (eds), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd edn, vol. 3. New York: Springer, pp. 655- 711.

Y

Yvon, M. (2006). Key enzymes for flavour formation by lactic acid bacteria. *Australian journal of dairy technology*, 61(2), 88.

Z

Zaidi, O. (2002).Caractérisation du fromage traditionnel *bouhezza*; caractérisation physicochimique et microbiologique. Mémoire d'ingénieur INATAA. Constantine, Algérie.

Zergoug, A. (2018). Effet des probiotiques et bactériocines vis-à-vis des pathogènes responsables des infections urinaires. Thèse de doctorat, université Abdelhamid Benbadis – Mostaganem.

Annexes

Annexe 1

Tableau 1: caractéristiques physico-chimiques détaillées de la *Kemaria* de huit échantillons.

Écha Paramètres	K1	K2	K3	K4	K5	K6	K7	K8	M
pH	6.98	7.007	6.66	6.86	6.940	7.00	6.80	7.01	6.9
Acidité Lactique (g/100g)	0.10	0,10	0,16	0,13	0,10	0,10	0 ,11	0 ,10	0.11
MG (g/100g)	16,5	16,4	14.8	15.8	14.61	13,68	12	14.5	14.7
EST (g/100g)	48	38	44.3	46	70	43	43	46	47.6
MGES(%)	34.3	42.8	32.7	33.9	20.8	31.3	32.5	31.5	31
TEFD (%)	62	74	65	78	35	66	64	63	63
Protéine total (g/100g)	0,10	0,07	0.06	0.07	0.06	0.08	0.09	0.12	0.085

Tableau 2 : Classification des fromages selon les normes du codex alimentaire.

	Formule (1)		Formule (2)	Formule (3)
TEFD(%)	Premier élément de dénomination	MGES(%)	Second élément de dénomination	Dénomination d'après les principales caractéristiques d'affinage
<51	Pâté extra-dure	>60	Extra-gras	1. Affiné:
49-56	Pâte dure	45-60	Tout-gras	a. principalement en surface
54-63	Pâte demi-duré	25-45	Mi- gras	b. principalement dans la masse
54-63	Pâte demi-molle	10-25	Quart-gras	
>67	Pâte molle	<10	Maigre	2. Affiné aux moisissures: a. principalement en surface b. principalement dans la masse 3. Frais

Tableau 3. Critères microbiologiques applicables - Laits et produits laitiers

Catégories des denrées alimentaires	Micro-organismes/ métabolites	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologiques (ufc (1)/g ou ufc/ml)	
		N	c	M	M
	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10 ⁴	10 ⁵
Fromages au lait cru					
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 ³	10 ⁴
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	

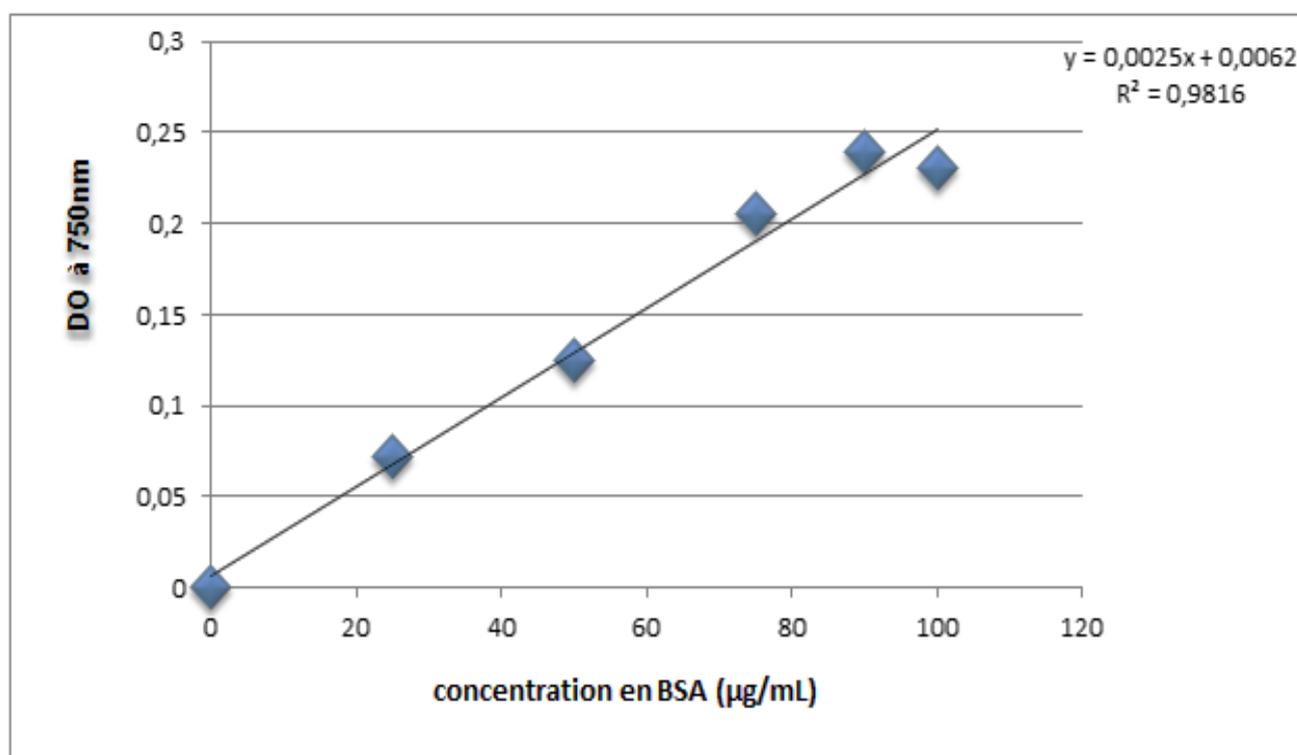
**Figure** Courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines selon la méthode de LOWRY.

Tableau : indicis NPP pour 100ml d'échantillon et limites de confiance à 95% (pour diverses combinaison : de résultats positifs avec trois prises d'essai de 10ml, trois de 1ml et trois de 0.1ml

Nombre de tubes positifs			NPP Par 100ml	Limites de confiance à 95%	
3 de 10ml	3 de 1ml	3 de 0.1ml		inférieur	Supérieure
0	0	1	3	<1	9
0	1	0	3	<1	13
1	0	0	4	<1	20
1	0	1	7	1	21
1	1	0	7	1	23
1	1	1	11	3	36
1	2	0	11	3	36
2	0	0	9	1	36
2	0	1	14	3	37
2	1	0	15	3	44
2	1	1	20	7	89
2	2	0	21	4	47
2	2	1	28	10	149
3	0	0	23	4	120
3	0	1	39	7	130
3	0	2	64	15	379
3	1	0	48	7	210
3	1	1	75	14	230
3	1	2	120	30	380
3	2	0	93	15	380
3	2	1	150	30	440
3	2	2	210	35	470
3	3	0	240	36	1300
3	3	1	460	71	2400
3	3	2	1100	150	4800

Annexe 02 : Composition des milieux de culture.

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

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

- Sur une lame, fixer à la chaleur une culture bactérienne ;
- Recouvrir la lame avec la solution de violet de gentiane pendant une minute ;
- Ajouter du lugol pendant 30 secondes ;
- Décolorer avec de l'alcool 95°, puis rincer { l'eau ;
- Faire une contre coloration en utilisant la fuschine et laisser agir 20 à 30 secondes ;
- Laver { l'eau ;
- Après séchage, soumettre la lame à une observation microscopique à immersion (x100).

Les bactéries à Gram positif apparaissent en violet et les bactéries à Gram négatif en rose.

• Gélose MRS

□ Composition du milieu

○ Polypeptone.....	10,00 g/l
○ Extrait de viande	10,00 g/l
○ Extrait autolytique de levure	5,00 g/l
○ Glucose.....	20,00 g/l
○ Tween 80.....	1,0 ml
○ Phosphate dipotassique	2,00 g/l
○ Acétate de sodium.....	5,00 g/l
○ Citrate d'ammonium.....	2,00 g/l
○ Sulfate de magnésium.....	0,20 g/l
○ Sulfate de manganèse.....	0,05 g/l
○ Agar agar bactériologique.....	15,00 g/l

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 6,8

• Gélose M 17

Composition du milieu

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

pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,1 ± 0,2.

• TSI(Three Sugar Iron)

Composition du milieu:

○ Tryptone.....	14,0 g
○ Extrait autolytique de levure.....	3,0 g
○ Extrait de viande	3,0 g
○ Glucose.....	1,0 g
○ Lactose	10,0 g
○ Saccharose	10,0 g

- Chlorure de sodium.....5,0 g
 - Thiosulfate de sodium.....0,3 g
 - Citrate ferrique ammoniacal.....0,3 g
 - Rouge de phénol.....24,0 mg
 - Agar agar bactériologique.....13,5 g
- pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,4 ± 0,2

- **Bouillon RAPPAPORT-VASSILIADIS Soja (RVS)**

- **Composition du milieu**

- Peptone papainique de soja.....4,50 g/l
 - Chlorure de sodium7,20 g/l
 - Phosphate mono potassique1,26 g/l
 - Phosphate di potassique0,18 g/l
 - Chlorure de magnésium anhydre13,40 g/l
 - Vert malachite (oxalate).....36,0 mg/l
- pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 5,2 ± 0,2.

- **Eau peptonée tamponnée**

- **Composition du milieu**

- Peptone.....10,00 g/l
 - Chlorure de sodium.....5,00 g/l
 - Phosphate disodique anhydre3,56 g/l
 - Phosphate monopotassique1,50 g/l
- pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,0 ± 0,2.

- **Eau physiologie 9 /ml NaCl**

- NaCl 9g
- Eau distillée1000 ml

- **Gélose de Baird-Parker**

- **Composition du milieu**

- Tryptone.....10,0 g/l
 - Extrait de viande 5,0 g/l
 - Extrait autolytique de levure1,0 g/l
 - Pyruvate de sodium10,0 g/l
 - Glycine.....12,0 g/l
 - Chlorure de lithium.....5,0 g/l
 - Agar agar bactériologique.....17,0 g/l
- pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,2 ± 0,2..

- **Gélose MRS tamponné (De Man Rogosa et Sharp, 1960) :**

- **Composition du milieu**

- Extrait de levure.....5g/l
- Extrait de viande.....10g/l
- Peptone10g/l
- Acétate de sodium.....5g/l
- Citrate de sodium2g/l
- Glucose.....20g/l
- KH₂PO₄13,697g/l

- MgSO₄..... 0,25g/l
- MnSO₄0,05g/l
- Na₂HPO₄..... 17,814g
- Agar15g/l
- PH=7

Autoclave : 120 °C pendant 20 min.

- **Plate Count Agar (PCA)**

Composition du milieu

- Tryptone.....5,0 g/l
- Extrait de levure.....2,5 g/l
- Glucose.....1,0 g/l
- Agar:.....15,0 g/l

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,0 ± 0,2.

- **Gelose Bismuth Sulphite.**

Composition du milieu

- Tryptone.....5,00 g/l
- Peptone pepsique de viande5,00 g/l
- Extrait de viande5,00 g/l
- Glucose.....5,00 g/l
- Phosphate disodique4,00 g/l
- Sulfate ferreux.....0,30 g/l
- Citrate de bismuth ammoniacal.....1,85 g/l
- Sulfite de sodium6,15 g/l
- Vert brillant.....25,0 mg/l
- Agar agar bactériologique.....14,70 g/l

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,6 ± 0,2.

- **Lauryl Sulfate Tryptose**

Composition du milieu

- Tryptose.....20,00 g/l
- Lactose5,00 g/l
- Phosphate dipotassique2,75 g/l
- Phosphate monopotassique2,75 g/l
- Chlorure de sodium5,00 g/l
- Laurylsulfate de sodium.....0,10 g/l

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 6,8 ± 0,2.

- **EC - Bouillon**

Composition du milieu

- Tryptone..... 20,0 g/l
- Lactose 5,00. g/l
- Sels biliaires n°3 : 1,50 g/l
- Phosphate dipotassique..... 4,00. g/l
- Phosphate monopotassique1,50. g/l
- Chlorure de sodium5,00. g/l

pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 6,8 ± 0,2.

- **Eau Peptonee Exempte D'indole**

Composition du milieu

- Tryptone.....10,00 g/l
 - Chlorure de sodium5,00 g/l
- pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,3 ± 0,2

- **Gélose nutritive :**

Composition du milieu

- Peptone5g/l
 - Extrait de viande1g/l
 - Extrait de levure2g/l
 - Chlorure de sodium..... 5g/l
 - Agar15g/l
- pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,3 ± 0,2.

- **Lait écrémé**

- Lait écrémé :
- Lait écrémé en poudre.....10g
- Extrait de levure..... .0,5g
- Eau distillée q.s.p.....1000ml
- pH=7
- Autoclavage : 110 °C pendant 10 min.

- **Eau physiologique :**

- Chlorure de sodium.....8,5g
- Peptone......0,5g
- Eau distillée.....q.s.p 1000m