

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Filière : Microbiologie appliquée
Option : Microbiologie Alimentaire Santé



Réf :.....

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

MASTER

Thème

*Evaluation de la qualité physico-chimique et
microbiologique du lben et du beurre fabriqués
avec les méthodes traditionnelles*

Présenté par :
MERAH Souad et MERZOUK Nawal

Soutenu le : **11 Juin 2015**

Devant le jury composé de :

M ^{me} FARRADJI	S	MCB	Présidente
M ^{me} BENACHOUR	K	MAA	Promotrice
M ^{me} KERAMANE	B	MAA	Examinatrice

Année universitaire : 2014 / 2015

Dédicace

*A vous qui m'avez donné la vie et
m'ayant enseigné, vous m'avez montré le
chemin de la connaissance pour arriver à
ce que je suis, c'est à vous mes chers
parents tout d'abord que je dédie ce
modeste travail*

*Aussi à mes chers frères Salim et Bilal,
sans oublier mon fiancé et sa famille, à
mes cousins, à mes oncles*

Que Dieu leur accorde une longue vie

A mes amies et à tous se que je connais

*A mes enseignant qui mon suivi et formé
durant tout mes études*

*A mes amies de la promotion
microbiologie alimentaire santé 2015*

A tous ceux que j'estime beaucoup

Nawal MERZOUK

Dédicace

Au terme de ce travail, je tien à remercier le bon Dieu le tout puissant de m'avoir accordé le courage, la patience et la santé pour réaliser ce modeste travail que je dédié à :

A mes chers parents et grands parents paternel qui m'ont soutenu et qui se sont sacrifié pour que je réussisse dans mes études. Que Dieu vous gardera pour nous.

A mes chers frères : Soufiane, Rafik, Nonoch et Wassim

A mon cher fiancé Omar qui me donne toujours l'espoir et la force de me battre et de me réussir, que Dieu te gardera pour moi. Ainsi que pour toute sa famille.

A la mémoire de mon grand père maternel, que Dieu l'accueil dans son vaste paradis.

A ma grande mère, A mes chères tantes : Ndjima, Meriem, Zahia et wissam pour leur encouragement, soutient et prières.

A mes chers oncles et leurs femmes. A mes très chers oiseaux neveux et nièces : Chaïma, Mélissa, Houda, Malak, Messi, dhaïa-edine et Youba.

A toutes mes cousines : Amel, Mouna, Lynda, Sabrina. A toute mes chers amies Yasmina, Sissa, Djija, Fairouz, Nisrine. En témoignage de l'amitié et les souvenirs de tout les moments qu'on a passé ensemble je vous dédié ce travail et vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur. A mon binôme Nawal et toute sa famille.

A la promotion de Microbiologie Alimentaire Santé 2015.

Merah souad

Remerciement

*On tient à remercier tout d'abord le
« Allah » qui nous a donné la bonne
volonté de réaliser ce modeste travail*

*Nos remerciements à notre promotrice
M^{me} Benachour pour les consignes et la
grande volonté qu'elle n'a pas cessé de
nous témoigner durant notre travail*

*Pour tout nos enseignants d'avoir rédigé
ces précieux conseils*

*On tient à remercier également les
membres de jury*

*Nous remercions tout nos amies sans
oublier tout le personnel de la faculté*

*On remercie enfin tous ceux qui nous ont
aidées de près ou de loin pour la
réalisation de ce travail*

Liste des abréviations

°C : Degré Celsius

°D : Degré Dornic

ADK: Adekar

AMZ: Amizour

ATB : Antibiotique

B: Beurre

BCPL : Bouillon Pourpre de Bromocresol

BHI : Bouillon Heart Infusion

CSR : Clostridium Sulfito-Réducteur

EMB : Eosine Méthylène Bleu

FTAM : Flore Totale Aérobie Mésophile

GC : Gioliti Contoni

GN : Gélose Nutritive

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

Lb : Lben

M 17 : Gélose M 17

MRS : Man Rogosa Schap

ODG : Oued ghir

OGA : Gélose à l'Oxytetracycline

PCA : Plate Count Agar

pH: Potentiel d'Hydrogène

S: Smen

SET: Souk El Tenine

Liste des abréviations

SFB : Bouillon du Sélénite Acide de Sodium

SFM : Société Française de Microbiologie

SM : Solution Mère

SS : Salmonella-Shigella

TGZ: Taghzout

UFC : Unité Formant Colonie

VF : Viande-Foie

VRBG : Gélose Glucosée Biliée au Cristal et au Rouge neutre

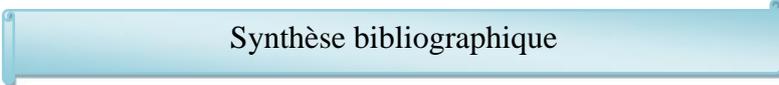
Liste des figures

Figure 1 : Procédé de fabrication des produits laitiers traditionnels.....	7
Figure 2 : Schémas présentant la microplaque pour la fermentation des sucres.....	17
Figure 3 : Les pH de différents échantillons.	21
Figure 4 : L'acidité de différents échantillons.	22
Figure 5 : La charge de la flore dans les échantillons.....	25
Figure 6 : La charge des coliformes totaux dans les échantillons.....	26
Figure 7 : La charge des la flore sporulée dans les échantillons.....	27
Figure 8 : Aspect des la flore sporulée sur milieu Gélose Nutritive.....	28
Figure 9 : La charge de la flore fongique dans les échantillons.....	28
Figure 10 : Aspect de la flore fongique sur Gélose à l'Oxytétracycline.....	29
Figure 11 : Enrichissement des <i>Staphylococcus aureus</i> sur bouillon Gioliti Contoni.....	29
Figure 12 : Aspect des colonies sur milieu Chapman.....	29
Figure 13 : Aspect d' <i>Escherichia coli</i> sur gélose d'Eosine Méthylène Bleu.....	30
Figure 14 : Répartition des bacteries pathogènes dans les échantillons.....	30
Figure 15 : Aspect bombé de couleur crémeuse des colonies sur milieu Mayeux.....	31
Figure 16 : Aspect des colonies sur gélose Man Rogosa Schap.....	31
Figure 17 : Croissance des souches sur bouillon MRS.....	34
Figure 18 : La répartition des souches isolées selon le genre à partir du lben.....	37
Figure 19 : La répartition des souches isolées selon le genre à partir du beurre.....	37
Figure 20 : Aspect des souches immobiles sur milieu mannitol-mobilité.....	39
Figure 21 : Résultats du test de coagulase.....	39
Figure 22 : Résultats du test de DNase.....	39
Figure 23 : Résultats du test d'antibiogramme.....	40

Liste des tableaux

Tableau I : Composition chimique moyenne d'un litre de lait de vache.....	03-04
Tableau II : Caractéristiques physico-chimiques du lait de vache.....	04
Tableau III : Les valeurs moyennes des principaux constituants du lben.....	08
Tableau IV : Composition moyenne pour 100 g de beurre.....	09
Tableau V : Différents groupes bactériens du beurre.....	10
Tableau VI : L'origine de différents échantillons.....	11
Tableau VII : Dénombrement et recherche des germes dans le lben.....	13
Tableau VIII : Dénombrement et la recherche des germes dans le beurre.....	14
Tableau IX : La lecture sur milieu TSI.....	18
Tableau X : Les différents disques d'antibiotiques utilisés.....	20
Tableau XI : Résultats du dénombrement de la flore lactique.....	24
Tableau XII : Les caractères physiologiques et biochimiques des 15 souches bacilles.....	32
Tableau XIII : Les caractères physiologiques et biochimiques des 10 bactéries isolées du milieu Mayeux.....	33
Tableau XIV : Les caractères physiologiques et biochimiques des 24 bactéries isolées du milieu MRS.....	35
Tableau XV : Les caractères physiologiques et biochimiques des 12 bactéries isolées du milieu M17.....	36
Tableau XVI : Résultats d'observation microscopique de 15 isolats.....	38
Tableau XVII : Résultats des tests biochimiques des <i>Staphylococcus aureus</i>	38-39
Tableau XVIII : Résultat d'antibiogramme	40
Tableau XIX : Résultats d'observation microscopiques des 16 isolats.....	42
Tableau XX : Résultats des tests biochimiques des coliformes.....	42-43

Sommaire

Introduction.....	1
	
I : Le Lait.....	3
I.1. Définition.....	3
I.2. Composition chimique.....	3
I.3. Propriétés physicochimique	4
I.4.La flore du lait.....	4
I.4.1. Flore originelle.....	5
I.4.2. Flore de contamination.....	5
I.5. Les bactéries Lactiques.....	6
I.5.1. Principales caractéristiques.....	6
II : Lben	7
II.1. Procédé de préparation.....	7
II.2. Composition et caractéristiques physico-chimique du lben.....	7
II.3. Microbiologie du Lben.....	8
III : Le Beurre	8
III.1.Valeur nutritionnelle.....	8
III.2. Caractéristiques organoleptiques.....	9
III.3. Les microorganisme d'altération	9
	
I. Provenances des échantillons.....	11
II. Analyses physico-chimiques.....	12
II.1. Mesure du pH.....	12
II.2. Acidité Dornic.....	12
III. Analyses microbiologiques.....	12
III.1. Préparation des dilutions	12
III.2. Les bactéries recherchées	12
III.3. Purification des isolats.....	15
III.3.1. Purification des bactéries lactiques.....	15
III.3.2. Purification des bactéries pathogènes	15
IV. Conservation des isolats	15
V. Tests d'orientation pour l'identification des bactéries	15
V.1. Identification des bactéries lactiques isolées	15
V.2. Identification des bactéries pathogènes	18
V.2.1. Identification des coliformes totaux.....	18
V.2.2. Identification des <i>Staphylococcus aureus</i>	19

Sommaire

Partie pratique : Résultats es discussion

I. Analyses physico-chimiques.....	21
I.1. pH.....	21
I.2. Acidité Dornic.....	22
II. Analyses microbiologiques.....	23
II.1. Dénombrement des différentes flores bactériennes.....	23
II.1.1. La flore lactique.....	23
II.1.2. La flore totale mésophile aérobie.....	25
II.1.3. Les coliformes totaux.....	26
II.1.4. La flore sporulée.....	27
II.1.5. La flore fongique.....	28
II.1.6. <i>Staphylococcus aureus</i>	29
II.1.7. Les coliformes fécaux.....	29
II.1.8. Les Salmonelles.....	30
II.1.9. Clostridium sulfito-réducteur.....	30
III. Répartition des bactéries pathogènes dans différent échantillons.....	30
IV. Identification des isolats.....	31
IV.1. La flore lactique.....	31
IV.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	38
IV.3. Les coliformes totaux.....	41
Conclusion.....	44
Bibliographie	
Annexes	
Résumé	

Introduction

Le lait est un aliment hautement nutritif par sa richesse en glucides, lipides, vitamines et sels minéraux (Aggad *et al.*, 2009 ; Ahmed *et al.*, 2010). De part, sa composition biochimique, c'est un milieu favorable pour la croissance des microorganismes surtout pathogènes. C'est un aliment majeur prisé par les populations de différentes régions du globe, il est très souvent consommé après transformation (Ahmed *et al.*, 2010).

Le lben et le beurre sont les aliments les plus populaires ; ils sont depuis toujours traditionnellement fabriqués dans de nombreux pays (Nakasaki *et al.*, 2008). Ainsi à travers le monde, il existe une multitude de produits dérivés du lait (FAO, 1995).

Ces derniers temps, la production du lben et du beurre est devenue une activité très importante. Cependant, elle reste domestique et artisanale. Ils sont vendus aux abords des routes, dans les marchés et les zones à fortes densités de populations (Katinan *et al.*, 2012).

Le lait et ces produits dérivés ont toujours été considérés comme étant l'une des principales causes des intoxications alimentaires (la contamination par différents germes pathogènes) (Gran *et al.*, 2002).

L'évaluation de la qualité microbiologique du lben et du beurre produits dans la région de Bejaia s'avère donc nécessaire. Sachant que, les règles d'hygiène ne sont pas respectées dans la production du lait fermenté. Celles-ci augmentent le risque de prolifération des microorganismes pathogènes qui causent des intoxications alimentaires (Katinan *et al.*, 2012).

C'est dans ce contexte que se situe cette étude. Elle vise à évaluer la qualité microbiologique du lben et beurre artisanaux.

Les informations obtenues pourront être utilisées pour sensibiliser les producteurs en vue d'améliorer la qualité hygiénique du lben et du beurre produits dans la région de Bejaia et voire dans tout le pays.

Pour ce faire, le travail réalisé a été divisé en deux parties :

- La première partie : Synthèse bibliographique. Elle porte sur des informations utiles et connues, sur le lait, lben, le beurre et les bactéries lactiques.

- La deuxième partie : Partie pratique. Elle est divisée en :
 - Matériel et méthodes : c'est la partie où nous avons réalisé les différentes analyses physico-chimiques, microbiologiques et identification des isolats ainsi que les méthodes et les matériels utilisés.
 - Résultats et discussion : c'est la partie où les résultats des analyses effectuées sont discutés.

Synthèse bibliographique

I. Lait

I.1. Définition

Selon le congrès international de la répression et des fraudes (1909) :

« Le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum » (Bourgeois et Larpent, 1996).

Selon la réglementation Algérienne (J.O.R.A., 1993) :

La dénomination « lait » est réservée exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale, obtenue par une ou plusieurs traites, sans aucune addition ni soustraction et n'a pas subi un traitement thermique.

I.2. Composition chimique

Le lait est un mélange liquide de nombreuses substances, dont certaines tel que le lactose et les caséines n'appartiennent qu'à lui (Mathieu, 1998).

En effet, le lait est un produit complexe dont la composition en glucides, protéines, sels minéraux sont remarquablement équilibrés ; par contre, il présente un déficit en fer ; et contient peu de vitamine C (tableau I).

La composition chimique du lait varie sous l'effet des facteurs liés à l'animal (stade physiologique, race, niveau génétique, état sanitaire, traite) ou autres (saison, alimentation) (Labussière, 1985).

Tableau I : Composition chimique moyenne d'un litre de lait de vache (Larpent, 1987).

Constituants	Concentration (g/l)
Eau	905
Glucide (lactose)	49
Lipides :	35
- Matière grasse proprement dite	34
- Lécithine (phospholipide)	0,5
- Partie insaponifiable (stéroïls, caroténoïde, tocophérol)	0,5

Protides :	34
- Caséines	27
- Protéines solubles (globulines, albumine)	5,5
- Substances azotées non protéique	1,5
Sels :	9
- Acide citrique	2
- Acide phosphorique	2,6
- Acide chlorhydrique (Na Cl)	1,7
Vitamines, enzymes, gaz dessous	Traces
Extrait sec total	127
Extrait sec non dégraissé	92

I.3. Propriétés physico-chimiques

Le lait présente des caractéristiques liées à sa nature biologique, sa variabilité, sa complexité, son hétérogénéité et son altérabilité. C'est un liquide opaque de couleur blanche, plus au moins jaunâtre (**tableau II**).

Tableau II : Caractéristiques physico-chimiques du lait de vache (**Alais, 1984**).

Caractéristiques	Valeurs
Densité à 20C°	1,028 – 1,033
Densité de matière grasse	0,94 – 0,96
Acidité dornic D°	15°D – 17°D
Point de congélation	-0,52 C° -0,55C°
Point d'ébullition	100,15C° – 100,17C°
pH à 20 C°	6,6 – 6,8

I.4. La flore du lait

Le lait constitue une source nutritive importante. Sa consommation est indispensable pour le nourrisson mais également pour l'adulte, d'où la nécessité de le fournir à une bonne qualité.

- Du point de vue hygiénique : il doit être sain, dépourvu de germes pathogènes.

- Du point de vue technique : il doit avoir une microflore banale aussi réduite que possible, surtout ce qui concerne les groupes habituels acidifiants producteurs de gaz (**Alais, 1984**).

Le lait est un excellent substrat pour la croissance microbienne. Il comporte une flore originelle et une flore de contamination (**Larpent, 1997**).

I.4.1. Flore originelle

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 5000 Bactéries/ml et moins de 1 coliforme/ml). Il s'agit essentiellement de germes saprophytes du pis et des canaux galactophores : *microcoques*, *streptocoques lactiques* et *lactobacilles* (**Larpent, 1997**).

Le lait cru est protégé contre les bactéries par des substances inhibitrices appelées « **lactinines** » mais leur action est de très courte durée (une heure environ). D'autres microorganismes peuvent se trouver dans le lait lorsqu'il est issu d'un animal malade. Ils sont généralement pathogènes et dangereux, du point de vue sanitaire. Il s'agit des agents de la mammite qui sont dus à des infections par *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium pyogenes*, *Echerichia coli*, *Streptococcus uberis* (**Larpent, 1997**).

Il peut s'agir aussi de germes d'infection générale qui peuvent passer dans le lait en l'absence d'anomalies du pis : *Salmonella*, *Brucella* (agent de fièvre de malt) et exceptionnellement *Listeria monocytogènes* (agent de Listériose), *Mycobactérium* (agent de tuberculose), *Bacillus anthracis* (agent du charbon), et quelques virus (**Guiraud, 2003**).

I.4.2. Flore de contamination

Le lait peut se contaminer par des apports microbiens d'origines diverses :

- Fèces et téguments de l'animal : *Coliforme*, *Entérocoque*, *Clostridium*, et éventuellement les Entérobactéries pathogènes (*Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*).
- Sol : *Streptomyces*, *Listeria*, bactéries sporulées, spores fongiques.
- Air et eau : flore diverse dont *Pseudomonas*, bactéries sporulées.
- Aliments : flore banale variée, en particulier les Lactobacilles, *Clostridium butyrique*.
- Equipement de travail et de stockage du lait : les *Microcoques*, les levures, la flore lactique avec les *Lactobacilles*, *Streptocoques*.

- Manipulateurs : *Staphylocoques*, dans le cas de traite manuelle, mais aussi des germes provenant d'expectoration et de contamination fécale.
- Vecteurs divers : insectes (**Guiraud, 2003**).

I.5. Les bactéries Lactiques

Les bactéries lactiques sont des microorganismes utiles pour l'Homme. Elles lui permettent de fabriquer et conserver un grand nombre de ses aliments. Elles ont été isolées pour la première fois à partir du lait (**Metchnikoff, 1908**)

Ces bactéries appartiennent aux genres : *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Lactosphaera*, *Leuconostoc*, *Melissococcus*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, et *Weisella* (**Vandamme et al., 1996 ; Stiles et Halzapfel, 1997 ; Axelson, 2004**). D'autres bactéries Gram positif, non sporulées et productrices d'acide lactique appartiennent à la famille des actinobacteriacée et au genre : *Aerococcus*, *Microbacterium*, *Propionibacterium* (**Gibson et Fuller, 2000 ; Holzapfel et al., 2001**), sont impliquées dans l'industrie agro-alimentaire.

I.5.1. Principales caractéristiques

- **Morphologie**

Deux aspects principaux :

- Une forme arrondie : leur diamètre mesurant environ 1 µm, ce sont des coques.
- D'autres plus allongées : ce sont des bacilles, de nombreuses formes peuvent être observées, bacilles très fins ou épais, forme courte ou longue (**Stiles et Holzapfel, 1997**).

- **Physiologie**

Les bactéries lactiques sont immobiles, non sporulées, anaérobies facultatif mais aérotolérantes, catalase-, nitrate réductase-, oxydase-, quelques souches possèdent que l'activité caséinolytique (**Precott et al., 1999**).

Elles ont une caractéristique principale qui est la production de quantités abondantes d'acide lactique par fermentation des substances hydrocarbonées.

Elles sont douées d'un phénomène de fermentation aboutissant à la formation d'alcool et d'acide organique.

II. Lben

Le lben est issu d'une fermentation spontanée du lait cru jusqu'à coagulation, suivie d'un léger mouillage, puis d'un barattage, permettant de recueillir une part plus ou moins importante de matière grasse sous forme de beurre (**Tanataoui, Elaraki et al., 1983**).

II.1. Procédé de préparation

- La préparation artisanale est simple, le lait est abandonné à lui-même jusqu'à coagulation qui se fait à température ambiante et dure 24 à 48 h selon la saison.
- Le barattage qui lui succède dure 30 à 40 minutes.
- Un volume d'eau (environ 10 % du volume du lait), chaude ou froide, suivant la température ambiante est ajoutée de façon à ramener la température de l'ensemble à un niveau convenable au rassemblement des grains de beurre (**Benkerroum et Tamime, 2004 ; Ouadghiri, 2009**).

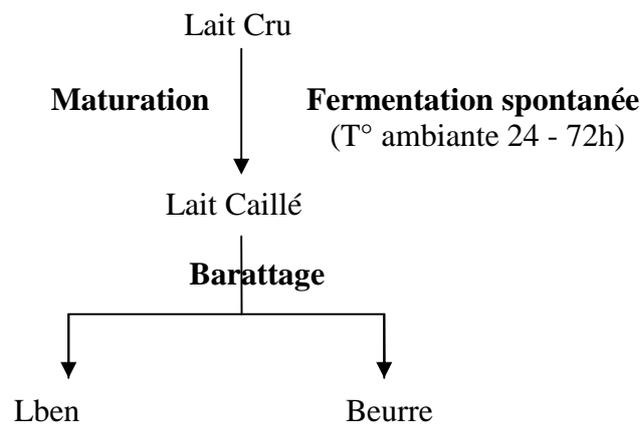


Figure 1 : Procédé de fabrication des produits laitiers traditionnels (**Benkerroum et Tammime, 2004**).

II.2. Composition et caractéristiques physico-chimiques du lben

La composition chimique du « lben » est variable. Elle dépend de la composition chimique du lait cru, de départ ; et de la procédure de fabrication. Elle dépend aussi des localités, des régions et des fermes (**El Baradei et al., 2008**).

La fermentation du lait par des micro-organismes particuliers induit des changements dans le goût, la texture, la couleur, la saveur et les propriétés nutritives du lait (**Duboc et al., 2001**).

L'extraction du beurre diminue le contenu en lipide (**Ben Kerroum et al., 1984**).

Tableau III : Les valeurs moyennes des principaux constituants du Lben (**Tantaoui, Elaraki et al., 1987**)

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

II.3. Microbiologie du Lben

Les bactéries lactiques des genres *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus* ont été identifiées dans le lben (**Mongensen et al., 1993**)

Les espèces *Lactococcus* et *Leuconostoc* sont prédominantes dans le Lben (**Tantaoui-Elaraki et al., (1983a)** et **Tantaoui-Elaraki et al., (1983b)**).

Les bactéries lactiques mésophiles sont responsables de la fermentation lactique et du développement de l'arôme dans le lben, elles peuvent atteindre 10^8 UFC/ml (**Tantaoui-Elaraki et al., (1983a)** et **Tantaoui-Elaraki et al., (1983b)**).

III. Beurre

La dénomination « beurre » est réservée au produit laitier de type émulsion d'eau dans la matière grasse, obtenu par des procédés physiques et dont les constituants sont d'origine laitière. Les termes de matières grasses laitières ou butyriques sont réservés aux lipides du lait (**Vierling, 2003**).

III.1. Valeur nutritionnelle

Le beurre est un aliment énergétique constitué principalement de glycérides (**tableau IV**). Il est solide à la température ambiante (**Charles et Guyl, 1997**).

Tableau IV: Composition moyenne pour 100 g de beurre (Apfelbaum, Romon, Dubus, 2009).

Composants	Valeurs
Energie	3155 K joules, 755 Calories
Lipides	83 g dont :
Acide gras saturés	52.6 g
Acides mono-insaturés	23.5 g
Acide gras polyinsaturés	2 g
Protéines	1 g
Glucides	1 g
Eau	15g
Cholestérol	250 mg
Vitamine A	900 µg à 1 mg
Vitamine D2	5 µg

III.2. Caractéristiques organoleptiques

Selon la saison, le goût, la texture et la couleur du beurre, les caractéristiques organoleptiques changent. Un beurre de printemps fait avec du lait de vaches nourries à l'herbe, aura plus d'arôme et une texture plus tartinable. En effet, la race de vache et le fourrage influent sur la composition en acides gras. C'est ainsi que les beurres fabriqués avec du lait produit par des vaches nourries à l'herbe, contiennent une plus grande proportion d'acides gras non saturés (notamment l'acide oléique), qui jouent un rôle important du point de vue diététique. De même, un beurre de printemps sera jaune pâle tandis qu'un beurre d'hiver sera blanc. Aussi, la texture du beurre se fait en fonction des rapports entre la matière grasse liquide et la matière grasse solide (Cossut *et al.*, 2002).

III.3. Les microorganismes d'altération

Afin de connaître l'état hygiénique du beurre traditionnel, ils procèdent à la recherche et le dénombrement des microorganismes (tableau V).

Tableau V: Différents groupes bactériens du beurre

Groupes bactériens	Caractéristiques
Bactéries mésophiles aérobies.	C'est l'ensemble des microorganismes aptes à se multiplier à l'air et aux températures moyennes (entre 25 et 40°C). Certaines bactéries sont pathogènes pour l'Homme (Bourgeois, 1980).
Coliformes totaux	Ce groupe contient toutes les bactéries aérobies ou anaérobies facultatifs, Gram négatif asporulées, en forme de bâtonnets, mobiles, ou non, ils fermentent le lactose (Cardial et al., 2003).
<i>Staphylococcus</i>	Ces bactéries sont des cocci, Gram + et possèdent une catalase (Buyser, 1980)
Levures	Leur présence n'est pas souhaitée dans les produits alimentaires. Leur développement provoque des altérations de leur qualité par formation de troubles, d'odeurs ou de goûts anormaux (Bouix et Leveau, 1980).
Moisissures	Les moisissures aboutissent à une modification de la valeur nutritionnelle du produit, à l'apparition de saveurs indésirables, dans d'autre cas certaines moisissures élaborent des substances toxiques qui peuvent provoquer des intoxications (Moreau, 1980)

Partie Pratique

Materiel et Méthodes

I. Provenances des échantillons

Dix sept échantillons de Lben et Beurre traditionnels ont été prélevés à partir de différentes régions de la Wilaya de Béjaia qui sont : Souk El Tenine, Adekar, Amizour, Oued Ghir, Taghzout .Ces derniers ont été fabriqués la veille des analyses, conservés à 4°C puis transportés le lendemain dans des flacons stériles. (**Tableau VI**).

Tableau VI : L'origine des différents échantillons

Prélèvements	Nature	Région	Code de l'échantillon
01	Lben (Lb)	Souk el Tenine	01 Lb SET 1
02	Beurre (B)	Souk el Tenine	02 B SET1
03	Beurre (B)	Souk el Tenine	03 B SET2
04	Lben (Lb)	Souk el Tenine	04 Lb SET1
05	Beurre (B)	Souk el Tenine	05 B SET1
06	Beurre (B)	Adekar	06 B ADK
07	Lben (Lb)	Amizour	07 Lb AMZ
08	Beurre(B)	Amizour	08 B AMZ
09	Lben (Lb)	Souk el Tenine	09 Lb SET2
10	Beurre (B)	Souk el Tenine	10 B SET2
11	Lben (Lb)	Souk el Tenine	11 Lb SET1
12	Beurre (B)	Souk el Tenine	12 B SET1
13	Lben (Chèvre) (Lb)	Taghzout	13 Lb TGZ
14	Smen (S)	Oued Ghir	14 S ODG
15	Lben(Lb)	Adekar	15 Lb ADK
16	Beurre (B)	Adekar	16 B ADK
17	Smen	Oued Ghir	17 S ODG

Les prélèvements sont réalisés pendant une période de trois (03) mois, du mois de Février au mois d'Avril. Des analyses microbiologiques et physico-chimiques sont effectuées au laboratoire de Microbiologie bloc (9) de l'université Targa Ouzemmour Bejaia.

II. Analyses physico-chimiques

Les analyses physico-chimiques qui ont été réalisées sont la mesure du pH et l'acidité Dornic.

II.1. Mesure du pH

Le pH est mesuré à l'aide d'un pH mètre (HANNA Inst. Ph 211, microprocessor pH meter).

II.2. Acidité Dornic

Un volume de 10 ml d'échantillon est mis dans un bécher, additionné de 2 à 3 gouttes de phénolphaléine à 1% (1g de phénolphaléine/100ml d'éthanol). Après, un titrage est réalisé avec du NaOH à N/9 contenue dans la burette jusqu'au virage de couleur en rose. L'acidité Dornic est calculée selon l'équation : $^{\circ}D = V \cdot 10$, où V = volume de la soude chuté (Guiraud, 1998).

III. Analyses microbiologiques

Les analyses microbiologiques qui ont été réalisées sont basées sur la recherche de différents groupes bactériens.

III.1. Préparation des dilutions

Dans des conditions aseptiques, 1ml du lben est introduit dans 9 ml d'eau physiologique. Des dilutions décimales allant de 10^{-1} à 10^{-7} pour les bactéries pathogènes et à 10^{-8} pour les bactéries lactiques, sont effectuées.

Pour le beurre, 10g sont mis dans 90 ml d'eau physiologique. Une homogénéisation à 45°C est réalisée. A partir de cette dilution d'autres dilutions sont effectuées jusqu'à 10^{-6} pour les bactéries pathogènes et à 10^{-8} pour les bactéries lactiques.

III.2. Les Bactéries recherchées

Plusieurs bactéries sont recherchées et dénombrées dans les produits laitiers artisanaux fermentés (tableaux VII et VIII).

Tableau VII : Dénombrement et recherche des bactéries dans le lben

Germes	Milieux de cultures	Dilutions	Ensemencements	Incubations	Références
F T A M	GN	(-5), (-6), (-7)	En masse	30°C/24 à 72h	J.O.R.A n°70, 2004
Coliformes totaux	EMB VRBG	(-1), (-2), (-3)	En masse	37°C/24 à 48h	J.O.R.A n°43, 2004
Coliformes fécaux	EMB	(-1), (-2), (-3)	En masse	44°C/24 à 48h	J.O.R.A n°43, 2004
	BCPL	(-1), (-2), (-3)	Bouillon		
<i>Staphylococcus aureus</i>	Giolitti Contoni (GC) + tellurite de Potassium	(SM)	Bouillon	37°C/24 à 48h	J.O.R.A n°70, 2004
	Chapman	A partir du tube GC+	En surface		
Salmonelles	Sélénite Acide de Sodium (SFB)	(SM)	Bouillon	37°C/24 à 48h	J.O.R.A n°42, 2004
	SS	A partir du tube SFB positif	En surface		
Flore sporulée	GN, après choc thermique 80° C/10min	(-1), (-2), (-3)	En masse	37°C/24 à 48h	
Clostridium sulfito-réducteur	VF +Alun de fer et Sulfite de Sodium+ l'ajout de l'huile de vaseline stérile	(-1), (-2), (-3)	En masse	37°C/24 à 48h	
Flore fongique	OGA	(SM), (-1), (-2)	En surface	30°C/3 à 5J	J.O.R.A n°32, 2004
Streptocoque et Lactocoque	M17	(-6), (-7), (-8)	En masse	30°C/24 à 48h	J.O.R.A n°32, 2004
Lactobacille	MRS	(-6), (-7), (-8)	En masse	37°C/24 à 48h	J.O.R.A n°32, 2004
<i>Leuconostoc</i>	Mayeux	(-6), (-7), (-8)	En masse	30°C/24 à 72h	J.O.R.A n°32, 2004

Tableau VIII : Dénombrement et la recherche des germes dans le beurre

Germes	Milieux de cultures	Dilutions	Ensemencements	Incubations	Références
FTAM	GN	(-4), (-5), (-6)	En masse	30°C/24 à 72h	J.O.R.A n°70, 2004
Coliformes totaux	EMB, VRBG	(SM), (-2), (-3)	En masse	37°C/24 à 48h	J.O.R.A n°43, 2004
Coliformes fécaux	EMB	(SM), (-2), (-3)	En masse	44°C/24 à 48h	J.O.R.A n°43, 2004
	BCPL	(SM), (-2), (-3)	Bouillon		
<i>Staphylococcus aureus</i>	GC + Tellurite de Potassium	(SM)	Bouillon	37°C/24 à 48h	J.O.R.A n°70, 2004
	Chapman	A partir du tube GC positif	En surface		
Salmonelles	SFB	(SM)	Bouillon	37°C/24 à 48h	J.O.R.A n°42, 2004
	SS	A partir du tube SFB positif	En surface		
Flore sporulée	GN, après choc thermique à 80°C/10min	(-1), (-2), (-3)	En masse	37°C/24 à 48h	
Clostridium sulfito-réducteur	VF+ Alun de fer+ Sulfite de Sodium+ l'ajout de l'huile de vaseline stérile	(-1), (-2), (-3)	En masse	37°C/24 à 48h	
Flore fongique	OGA	(SM),(-1), (-2)	En surface	30°C/3 à 5J	J.O.R.A n°32, 2004
Streptocoque et Lactocoque	M17	(-6), (-7), (-8)	En masse	30°C/24 à 48h	J.O.R.A n°32, 2004
Lactobacille	MRS	(-6), (-7), (-8)	En masse	37°C/24 à 48h	J.O.R.A n°32, 2004
<i>Leuconostoc</i>	Mayeux	(-6), (-7), (-8)	En masse	30°C/24 à 72h	J.O.R.A n°32, 2004

III.3. Purification des isolats

III.3.1. Purification des bactéries lactiques

Après croissance et comptage des colonies en boîte de Pétri et par dilution, trois à cinq colonies isolées sont prises de chaque boîte. Une recherche de la catalase et de la coloration de Gram est effectuée sur ces bactéries.

Les bactéries à Gram positif, catalase négative et non sporulées sont retenues et repiquées sur les bouillons appropriés. L'opération est renouvelée jusqu'à l'obtention d'une culture pure, dont la pureté est estimée par l'observation microscopique.

III.3.2. Purification des bactéries pathogènes

De trois à cinq colonies caractéristiques sont prises de chaque boîte de Pétri et un repiquage sur le bouillon BHI est réalisé.

IV. Conservation des isolats

La conservation des isolats purifiés est réalisée par ensemencement sur gélose inclinée. Après incubation des bactéries lactiques à 30°C pendant 18h, et à 37 °C pendant 24h pour les bactéries pathogènes, les tubes sont conservés à 4°C, la revivification de ces bactéries se fait toutes les trois (03) semaines (Saidi *et al.*, 2002).

V. Tests d'orientation pour l'identification des bactéries

V.1. Identification des bactéries lactiques isolées

- **Observation macroscopique**

Une observation macroscopique permet de décrire l'aspect des colonies, obtenus sur milieu solide (taille, pigmentation, contour, aspect, viscosité).

- **Observation microscopique**

L'observation microscopique au grossissement (G X 100) permet de classer les bactéries selon leur Gram, leur morphologie cellulaire, leur mode d'association (Joffin *et Leyral*, 1996).

- **Coloration de Gram**

Elle est nécessaire pour différencier entre les groupes bactériens. C'est une étape qui permet la distinction entre les bactéries Gram – (en rose) et Gram + (en violet).

- **Test de production de catalase**

Une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes est déposée sur une colonie. Le résultat est immédiat et se caractérise par un dégagement gazeux (O₂) si la catalase est présente (**Devoyod et Müller, 1969**).

- **Test de production de CO₂ à partir du glucose**

Des colonies bien isolées ont été ensemencées sur milieu MRS bouillon renferme une cloche de Durham inversé. L'incubation se fait à une température de 37°C pendant 24h à 48h (**Holzappel and Gerber, 1983; Müller, 1990**).

- **Test de croissance en présence de NaCl (3%, 4% et 6,5%)**

Sur des bouillons hyper-salés contenant du NaCl à des concentrations de 3,4 et 6,5%, nous avons cultivé les bactéries isolées et les avons incubé à des températures adéquates pendant 48 h à 3 jours. Le développement des cultures a été apprécié par un trouble, par comparaison avec un tube témoin non ensemencé, incubé dans les mêmes conditions.

- **Test de croissance à différents pH**

Le test a été réalisé dans un bouillon MRS ajusté à un pH 4 et à un pH 9,6. Après ensemencement du milieu avec une culture jeune et incubation à 30°C pendant 24 à 72h. L'observation d'un trouble signifie que la bactérie résiste à ces différents pH (**Carr et al., 2002**).

- **Test de croissance à différentes températures**

Les souches bactériennes ont été ensemencées dans le milieu MRS et leurs croissances testées à des températures variables 30°C, 37°C, et 45°C. Le développement des bactéries était apprécié après 24 et 48h par un trouble (**Larpent, 1996**).

- **Test de la thermorésistance**

Les bactéries ont été inoculées dans des tubes contenant le bouillon MRS et mises dans un bain-marie réglé à 63,5°C pendant 30 minutes. Après un traitement thermique les tubes ont été incubés à 37°C pendant 24 à 48h. Le résultat positif se traduit par un trouble.

- **Test de la fermentation des sucres**

La fermentation des carbohydrates a été menée sur milieu MRS sans glucose et extrait de viande, ce milieu est additionné du rouge de phénol comme indicateur de pH.

La source de carbone est représentée par l'un des sucres suivants: arabinose, cellulose, galactose, lactose, mannitol, et sucrose. Les solutions sucres sont préparées à 5% et stérilisées par autoclavage. Dans une microplaque, cinq microlitre (5ul) de la solution sucrée sont additionnés à 100ul de MRS.

La suspension bactérienne est obtenue à partir d'une pré-culture sur milieu MRS qui est incubé à 30°C/24 à 48h, une colonie est mise dans l'eau physiologique pour avoir une suspension et une dilution, 25ul de cette suspension est disposée dans chaque puits.

La fermentation du sucre test est traduite par le trouble du milieu accompagné par virage au jaune de l'indicateur de pH dû à l'acidification du milieu (Larpent, 1996) (Figure 4).

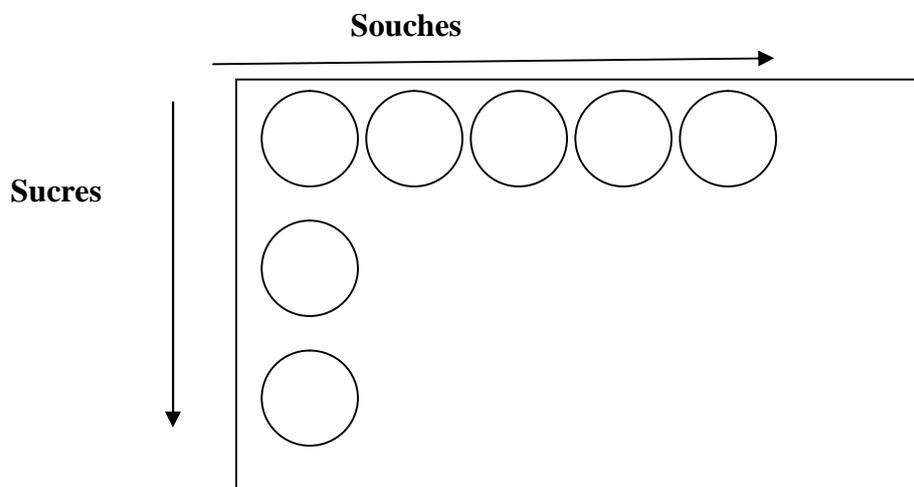


Figure 2 : Schémas présentant la microplaque pour la fermentation des sucres.

- **Resistance à la vancomycine**

Ce test permet la différenciation entre le genre *Lactococcus* et *Leuconostoc* et ceci par réalisation d'un antibiogramme. Les *Leuconostoc* résistent à cet antibiotique (Mathot et al., 1993).

V.2. Identification des bactéries pathogènes

V.2.1. Identification des coliformes totaux

- **Test d'indole**

Le test est effectué par l'ensemencement de 100 *ul* de suspension bactérienne dans les tubes urée-indole, incubation à 37°C/24h. La lecture, se fait par l'ajout de 3 gouttes du réactif de Kovacs ; et sans agiter le milieu. Le résultat positif se traduit par l'apparition de l'anneau rouge, si la bactérie est indole positif (**Larpent, 1997**).

- **Test de fermentation des sucres sur milieu TSI**

A partir d'une colonie prélevée, l'ensemencement du culot par piqûre centrale et la surface inclinée par des stries serrées le milieu TSI est effectué. Incubation à 37°C/24h à 48h, L'utilisation de l'un des sucres contenus dans le milieu se traduit par une acidification. La production de sulfure d'hydrogène à partir du thiosulfate est mise en évidence par la formation d'une coloration noire (**tableau IX**)

Tableau IX: La lecture sur milieu TSI

Eléments recherchés	Virage de couleur	Résultats
Glucose	culot rouge : glucose non fermenté	Glucose -
	culot jaune : glucose fermenté	Glucose +
Saccharose	pente inclinée rouge : saccharose non fermentés	Saccharose -
	pente inclinée jaune : saccharose fermenté	Saccharose +
Lactose	pente inclinée rouge : lactose non fermentés	Lactose -
	pente inclinée jaune : lactose fermenté	Lactose +
H2S	formation d'une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la piqûre	H2S +
Gaz	apparition de gaz dans le culot	Gaz +

- **Test de fermentation du citrate**

La réalisation du test se fait par l'ensemencement de la pente avec une culture jeune en stries à l'aide d'une pipette Pasteur ; des tubes de citrate Simmons, incubation à 37°C pendant 24h. Le résultat positif se traduit par le changement de la couleur par l'apparition d'un bleu intense.

- **Test de mobilité**

Une culture jeune a été ensemencée par piqure centrale à l'aide d'une pipette Pasteur dans un tube mannitol-mobilité, incubation à 37°C pendant 24h. Ce milieu permet l'étude de :

La fermentation du mannitol qui se traduit par un virage de couleur en jaune.

La mobilité de la bactérie qui se traduit par diffusion des bactéries dans la gélose.

- **Test de fermentation des sucres sur milieu KIA**

Les tubes à gélose KIA inclinés ont été ensemencés à l'aide d'une pipette Pasteur en piquant le culot et en striant la surface de la pente, suivie d'une incubation à 37°C/ 24h. La fermentation du lactose produit des pentes et des culots jaunes. Les microorganismes incapables de fermenter l'un ou l'autre des glucides, produisent des pentes et des culots rouges. La production d'acide sulfhydryde est mise en évidence par la couleur noir. La production du gaz est révélée par la formation de bulles ou le déplacement de la gélose.

V.2.2. Identification des *Staphylococcus aureus*

- **Test de coagulase**

Dans des tubes à hémolyse stérile 0,5 ml, d'une culture de 18 h en BHI de la souche à tester, sont additionnés de 0,5 ml de plasma Humain et incubés à 37°C. Les lectures sont effectuées toutes les 2 heures au moins pendant 18 heures. S'il ya coagulation du plasma, ceci signifie coagulase positive.

- **Test d'hémolyse**

Une gélose au sang est préparée par l'ajout de 10ml de sang dans 200ml d'une gélose base au sang, l'ensemencement du milieu se réalise avec une goutte de suspension bactérienne en stries, incubation à 37°C/24h à 48h. L'apparition de : Halo d'éclaircissement complet, à bords nets => **hémolyse β**

Halo verdâtre, à bords flous => **hémolyse**

- **Test DNase**

Une culture jeune a été ensemencée en spot à l'aide d'un écouvillon dans une gélose ADNase (institut Pasteur) puis incubé à 37°C/ 24h. La boîte est recouverte d'acide chlorhydrique (1N) qui précipite l'ADN polymérisé et opacifie le milieu. Les colonies positives à la désoxyribonucléase seront cernées de zones plus claires après 2 min (**Murano et Hudnall, 2001**).

- **Test de résistance aux antibiotiques**

Six antibiotiques ont été déposés sur la surface du milieu de culture Muller-Hinton(MH) ensemencé par une culture jeune, incubation à 37°C/24h à 48h. La sensibilité ou la résistance aux antibiotiques testés est évaluée par la mesure des diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne autour des disques d'antibiotiques (**tableau X**) (**CASFM, 2013**).

Tableau X : Les différents disques d'antibiotiques utilisés

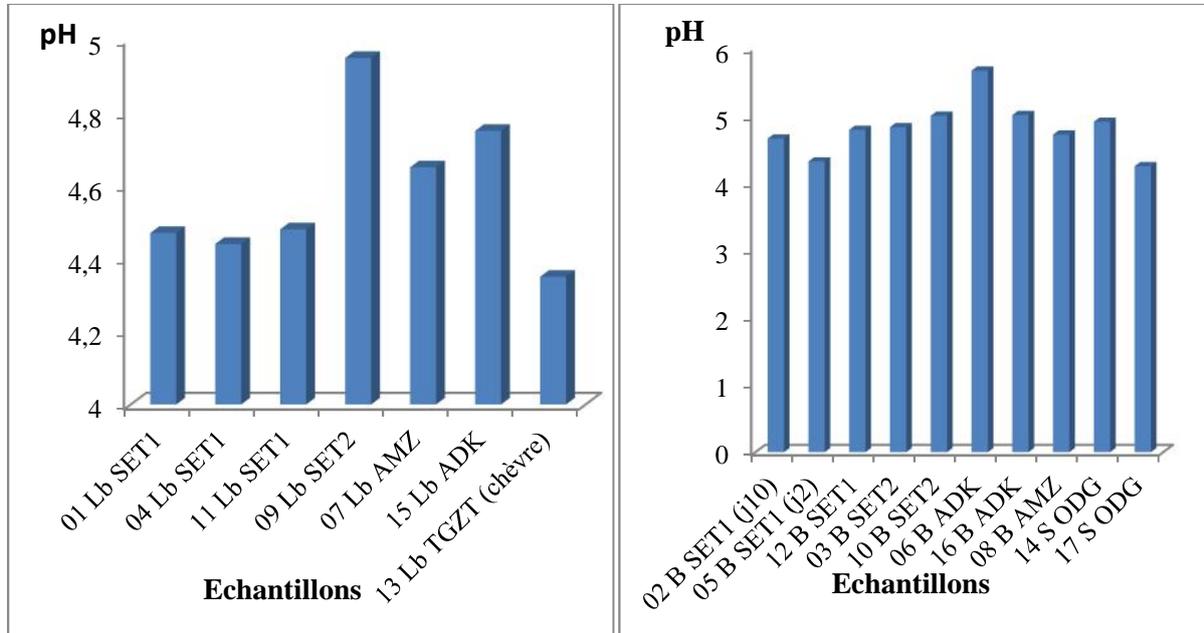
Antibiotiques	Concentration
Pénicillines	
Pénicilline G (P 10)	10ug
Ampicilline (A 10)	10ug
Oxacilline (OX 5)	5ug
Céphalosporines	
Céfoxitine (FOX)	30ug
Glycopeptides	
Vancomycine (VA 30)	30ug
Fluoroquinolones	
Pefloxacin (PEF)	5ug

Résultats et Discussion

I. Analyses physico-chimiques

I.1. pH

Les résultats de la mesure du pH obtenus sont présentés dans les figures (3a ; 3b) :



a : pH du lben

b : pH du beurre

Figure 3: Les pH de différents échantillons

Le pH du lben et du beurre analysés provenant des cinq régions varie entre 4,4 et 4,95 pour le lben avec une moyenne de 4,62 qui est supérieure à celle rapportée par l'étude de (Tantaoui Elaraki *et al.*,1983) au Maroc (moyenne 4,4), et entre 4,32 et 5,67 pour le beurre.

Une valeur de 4,35 pour l'échantillon du lben de chèvre est enregistrée.

Le pH des échantillons est variable même s'ils sont issus de la même région:

- Des valeurs variantes entre 4,44 et 4,48 avec une moyenne de 4,463 pour le lben de Souk El Tenine .
- Des valeurs variantes entre 4,32 et 4,79 avec une moyenne de 4,463 pour le beurre de Souk El Tenine .
- Une valeur minimale de 4,83 et une maximale de 5 pour le beurre de Souk El Tenine d'un deuxième échantillon.
- Une valeur minimale de 5,01 et une maximale de 5,67 pour le beurre d'Adekar.

- Une valeur minimale de 4,25 et une maximale de 4,91 pour le smen d'Oued Ghir.

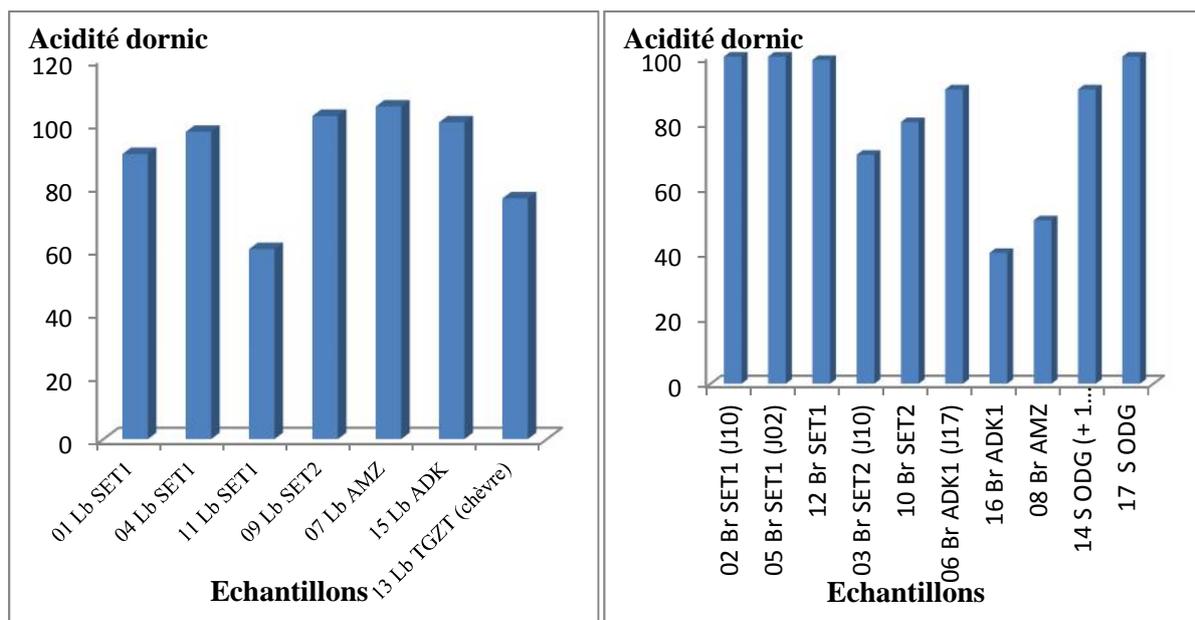
Une différence de pH entre le lben et le beurre est notée, une similitude pour ceux du beurre et une variabilité pour ceux du lben.

Cette différence de pH est due à la nature de l'alimentation, les pH inférieurs du lait à la traite peuvent résulter de l'infection de la mamelle de l'animal (**Morgane, 1999**), mais aussi du facteur génétique qui a une grande influence sur les variations du lait de chèvre (**Remeuf, 1993**).

Les valeurs moyennes élevées des pH pourraient être dues à une chute rapide de la température au cours du processus de fabrication du lben et du beurre (**Katinan et al., 2012**).

I.2. Acidité Dornic

Les résultats obtenus sont présentés dans les figures (4a ; 4b):



a : Acidité du lben

b : Acidité du beurre

Figure 4: L'acidité de différents échantillons

Les valeurs de l'acidité Dornic des échantillons du lben analysés varie entre 60°D et 105°D avec une moyenne de 92,33°D qui est supérieure à celle obtenue (75°D) par l'étude réalisée par (**Tantaoui Elaraki et al., 1983**) et des valeurs comprises entre 40°D et 100°D avec une moyenne de 78,62 °D pour le beurre.

Une valeur de 76 °D pour 13 Lb TGZ.

L'acidité du Smen varie entre 90°D et 100°D.

L'acidité est variable même s'elle est issue de la même région:

- Des valeurs comprises entre 60°D et 97°D avec une moyenne de 82,333°D pour le lben de Souk El Tenine .
- Une valeur minimale de 70°D et une valeur maximale de 80°D pour le beurre de Souk El Tenine.
- Une valeur minimale de 40°D et une valeur maximale de 90°D pour le beurre d'Adekar.
- Une valeur minimale de 90°D et une valeur maximale de 100°D pour le smen d'Oued Ghir.

Selon (**J.O.R.A, 1993**) : la norme de l'acidité titrable du lben est tolérée entre 75°C et 85°D, donc 83% de nos échantillons ont des valeurs supérieures. Ce résultat pourrait s'expliquer par le fait que la production artisanal du lben suit une démarche empirique de sorte que certains paramètres physiques tels que le temps et la température de fermentation varient d'une production à une autre (**Katinan et al., 2012**).

L'augmentation de l'acidité est un indicateur de la qualité de conservation du lait (**Cassinello et Pereira, 2001**).

Le pH et l'acidité dépendent de la teneur en sels minéraux, et en ions ; ainsi que des conditions hygiéniques lors de la traite, de la procédure de fabrication du lben et du beurre, de la flore microbienne et son activité métabolique (**Labioui, 2009**).

II. Analyses microbiologiques

II.1. Dénombrement des différentes flores bactériennes

II.1.1. La flore lactique

Tableau XI : Résultats du dénombrement de la flore lactique

Prélèvement	Milieu M17	Milieu MRS	Milieu Mayeux
01 Lb SET₁	1 10 ⁹	1,2 10 ⁹	1,5 10 ⁹
02 B SET₁ (J₁₀)	2,63.10 ⁸	1,13.10 ⁸	3,58.10 ⁷
03 B SET₂ (J₁₀)	9.10 ⁷	1.10 ⁷	8,75.10 ⁶
04 Lb SET₁	1,18.10 ¹⁰	1,02.10 ¹⁰	4,30.10 ⁸
05 B SET₁ (J₀₂)	1.10 ⁸	1.10 ⁸	4,45.10 ⁷
06 B ADK₁ (J₁₇)	10 ⁹	1,80.10 ¹⁰	4,95.10 ⁹
07 Lb AMZ	1.10 ⁹	1.10 ⁹	1,27.10 ¹⁰
08 B AMZ	1.10 ⁹	1.10 ⁹	4,95.10 ⁹
09 Lb SET₂	1.10 ⁹	1.10 ⁹	8,13.10 ⁹
10 B SET₂	6,55.10 ⁹	1,07.10 ¹⁰	5,95.10 ⁸
11 Lb SET₁	1.10 ⁹	1,04.10 ¹⁰	1,25.10 ¹⁰
12 B SET₁	1,76.10 ¹⁰	4,45.10 ⁹	7,35.10 ⁹
13 Lb TGZ (chèvre)	3,76.10 ⁹	9,30.10 ⁹	5,53.10 ⁹
14 S ODG	4,68.10 ⁴	2,55.10 ³	1,85.10 ³
15 Lb ADK₁	5,96.10 ⁹	3,47.10 ⁹	1,03.10 ¹¹
16 B ADK₁	3,90.10 ⁹	6,25.10 ⁹	6,55.10 ⁹
17 S ODG (+ 1 année)	4,36.10 ⁵	2,90.10 ⁴	3,16.10 ⁵

Nous avons enregistré des valeurs de la charge bactérienne dans le milieu M17 pour le lben, situées entre 10⁹ UFC/ml (pour les échantillons 01 Lb SET₁, 07 Lb AMZ, 09 Lb SET₂, 11 Lb SET₂) et 1,18.10¹⁰ UFC/ml pour l'échantillon 04Lb SET₁, et pour le beurre un minimum de 9.10⁷ UFC/ml est enregistré dans 03B SET₂ et un maximum de 1,76.10¹⁰ UFC/ml dans 12 B SET₁.

Une valeur de 3,76.10⁹ UFC/ml est révélé pour 13Lb TGZ ; 4,68.10⁴ UFC/ml pour l'échantillon 14 S ODG et 4,36.10⁵ UFC/ml pour l'échantillon 17 S ODG

Nous avons enregistré des valeurs dans le milieu MRS comprises entre 10⁹ UFC/ml dans les échantillons 07 Lb AMZ, 09 Lb SET₂ et 1,04.10¹⁰ UFC/ml dans l'échantillon 11 Lb SET₁, et pour le beurre un minimum de 10⁷ UFC/ml dans l'échantillon 03 B SET₂ et un maximum de 1,80.10¹⁰ dans l'échantillon 06 B ADK.

Une valeur de $9,30.10^9$ UFC/ml est enregistrée pour l'échantillon 13 Lb TGZ ; une valeur de $2,55.10^3$ UFC/ml pour l'échantillon 14 S ODG, et $2,90.10^4$ UFC/ml pour l'échantillon 17 S ODG.

Nous avons enregistré des valeurs dans le milieu Mayeux situées entre $4,30.10^8$ UFC/ml dans l'échantillon 04 Lb SET₁ et $1,03.10^{11}$ UFC/ml dans l'échantillon 15 Lb ADK, et pour le beurre un minimum de $8,75.10^6$ UFC/ml dans l'échantillon 03 B SET₂ et un maximum de $7,35.10^9$ UFC/ml dans l'échantillon 12 B SET₁.

Une valeur de $5,53.10^9$ UFC/ml est enregistrée pour l'échantillon 13 Lb TGZ ; une valeur de $1,85.10^3$ UFC/ml pour l'échantillon 14 S ODG et $3,16.10^5$ UFC/ml pour 17 S ODG.

Le lait dans les cellules de la mamelle est stérile (**Tolle 1980**), mais il peut être contaminé à partir de diverses sources (glandes mammaires, peau de la mamelle, moyens de traite, qualité de l'air dans la ferme et les pratiques des éleveurs); ce qui explique les différences de nombre des bactéries lactiques dans les différents échantillons analysés entre les différentes régions puisque le niveau et les conditions d'hygiène n'étaient pas les mêmes.

II.1.2. La flore totale mésophile aérobie

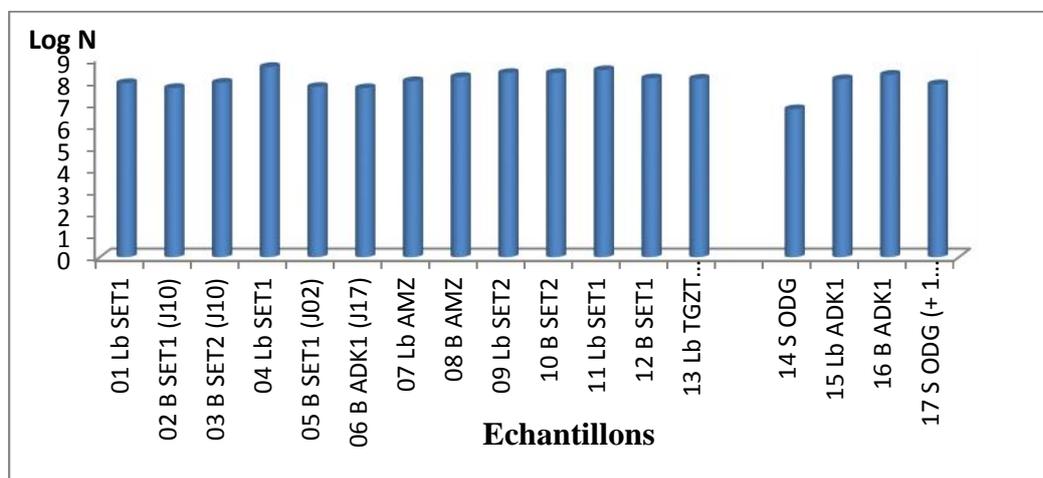


Figure 5: La charge de la flore totale dans les échantillons

Nous avons enregistré dans le lben, des valeurs situées entre $7,55.10^7$ UFC/ml dans l'échantillon 01Lb SET₁ et $4,15.10^8$ UFC/ml dans l'échantillon 04 Lb SET₁ et dans le beurre un minimum de $4,60.10^7$ UFC/ml dans l'échantillon 02 B SET₁ et un maximum de $2,20.10^8$ UFC/ml dans l'échantillon 10 B SET₂.

Une valeur de $1,23.10^8$ UFC/ml est enregistrée dans l'échantillon 13 Lb TGZT et 5.10^6 ; $6,78.10^7$ UFC/ml pour les deux smen 14 S ODG et 17 S ODG (**Figure 5**).

Nos résultats (moyenne de $1,4.10^8$ UFC/ml) sont inférieurs aux résultats obtenus par (**Tantaoui-Elaraki, 1983**) au Maroc (moyenne de $2,15.10^9$ UFC /ml) et supérieure à ceux rapporté par (**El-Marnissi et al., 2013**) (moyenne de $7,8.10^6$ UFC/ml).

La teneur en flore totale et la variabilité de la qualité microbiologique des lben et beurres est liée aux facteurs d'élevage au sein des exploitations, l'état sanitaire de l'animal, les conditions (durée, température) de collecte et de conservation du lait, les conditions de préparation du lben et du beurre, l'état de propreté de toutes les surfaces entrant en contact d'une manière obligatoire ou accidentelle avec le lait.

II.1.3. Les coliformes totaux

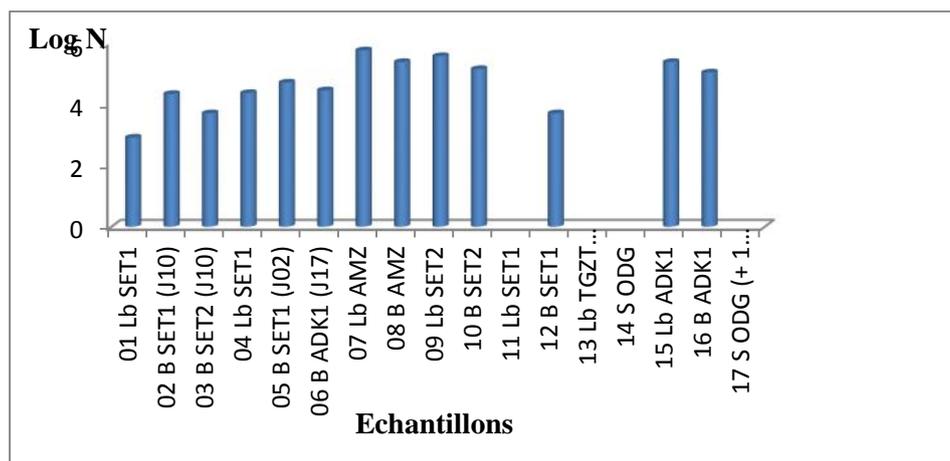


Figure 6: La charge des coliformes totaux dans les échantillons.

Nous avons enregistré dans le lben des valeurs situées entre $7,95.10^2$ UFC/ml dans l'échantillon 01 Lb SET₁ et $5,60.10^5$ UFC/ml dans l'échantillon 07 Lb AMZ et dans le beurre un minimum de 5.10^3 UFC /ml dans l'échantillon 03 B SET₂, 12 B SET₁ et un maximum de $2,30.10^5$ dans l'échantillon 08 B AMZ. On a enregistré une absence dans l'échantillon 13 LbTGZ et dans les deux smen (traitement thermique et salage) (**Figure 6**).

Cela est dû, d'après (**Gledel, 1987**), aux facteurs suivants :

- La contamination par les mains des trayeurs durant la traite et des préparateurs du lben et du beurre.

- Le trayeur ne désinfecte pas les mamelles avant la traite et leurs articles de préparation.
- La traite est effectuée au niveau des étables ce qui favorise la contamination.

Nos résultats sont supérieurs ($9,01.10^5$ UFC/ml) à ceux rapportés au Maroc par (El-Marnissi *et al.*, 2013) et (Benkerroum et Tammime, 2004) qui ont trouvés 10^4 UFC/ml. Selon (J.O.R.A., 1998), les normes pour la présence des coliformes totaux dans le lben est de 3.10^4 UFC/ml.

II.1.4. La flore sporulée

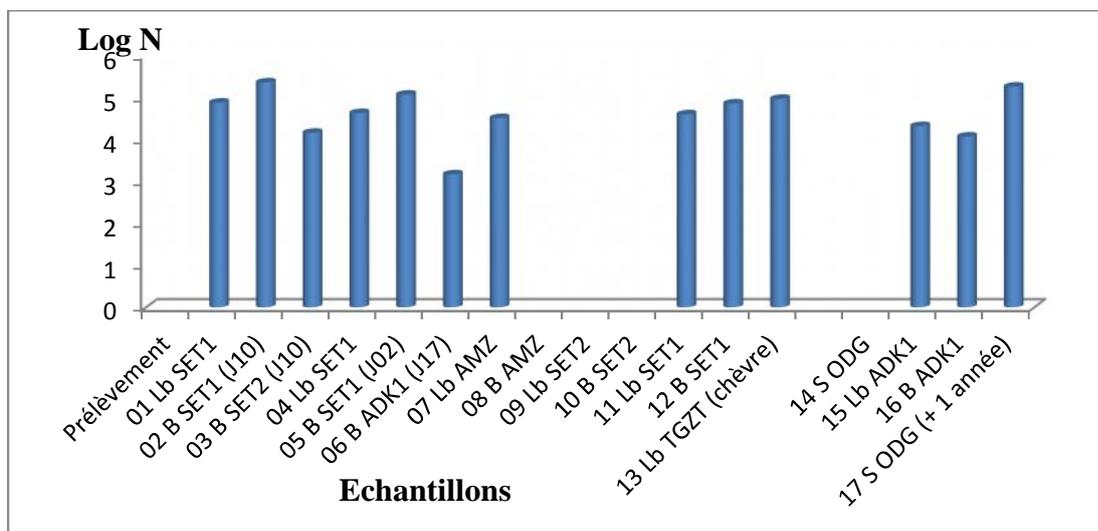


Figure 7: La charge de la flore sporulée dans les échantillons.

Nous avons enregistré dans le lben des valeurs qui varient entre $2,12.10^4$ UFC/ml dans l'échantillon 15Lb ADK et $7,60.10^4$ UFC/ml dans la région 01Lb SET₁ et dans le beurre un minimum de $1,5.10^3$ UFC/ml dans l'échantillon 03B SET₂ et un maximum de $2,32.10^5$ UFC/ml dans l'échantillon 05B SET₁ (**Figure 7**).

Une valeur de $9,48.10^4$ UFC/ml est enregistrée dans l'échantillon 13 Lb TGZ et $1,84.10^5$ UFC/ml pour le smen 17 S ODG.

On a révélé l'absence totale dans les échantillons suivants : 08 B AMZ, 09 Lb SET₂, 10 B SET₂, 14 S ODG.

Les deux espèces présumées sont *Bacillus subtilis* et *Bacillus cereus*.

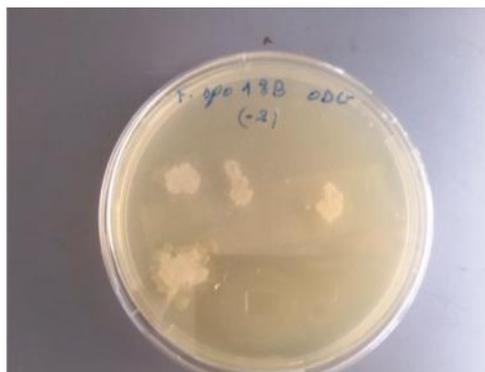


Figure 8: Aspect de La flore sporulée sur milieu GN

La présence de cette flore peut être due au contact avec l'environnement durant la collecte du lait, préparation du lben, l'eau utilisée pendant la préparation.

II.1.5. La flore fongique

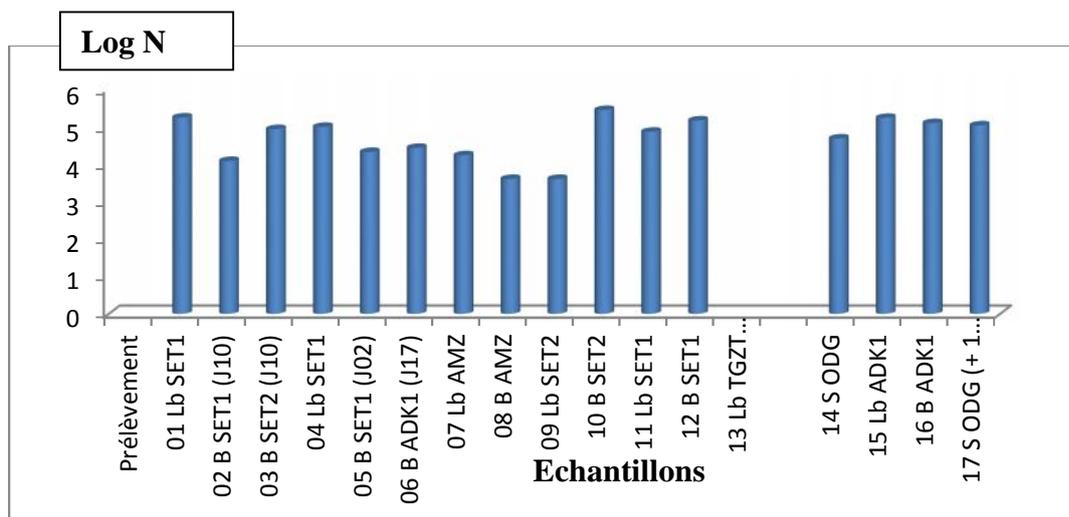


Figure 9: La charge de la flore fongique dans les échantillons.

Nous avons enregistré dans le lben des valeurs comprises entre $4 \cdot 10^3$ UFC/ml (09Lb SET₂) et $2,76 \cdot 10^5$ UFC/ml dans l'échantillon 11Lb SET₁ et pour le beurre un minimum de $4 \cdot 10^3$ UFC/ml dans le 10 B SET₂ et un maximum de $1,24 \cdot 10^5$ UFC/ml dans l'échantillon 16 B ADK.

Une valeur de $1,46 \cdot 10^5$ UFC/ml est enregistrée pour 13 Lb TGZT ; $4,80 \cdot 10^4$ UFC/ml pour 14 S ODG et $1,09 \cdot 10^5$ UFC/ml pour 17 S ODG.

Les résultats obtenus révèlent la présence des moisissures (**Figure 9 et 10**) dans tous les échantillons contrairement la norme recommandée par (**J.O.R.A., 1998**) (absence).

Les levures et moisissures ont un pH optimal de croissance entre 4,5 et 6,5 ce qu'explique leurs présence (El-Marnissi et al., 2013).

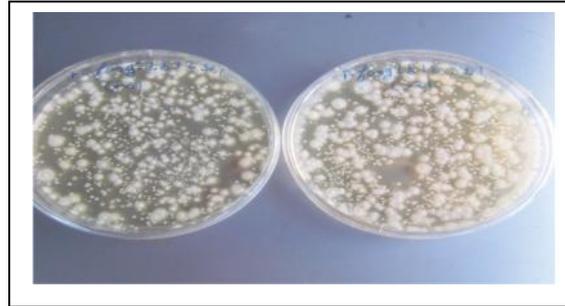
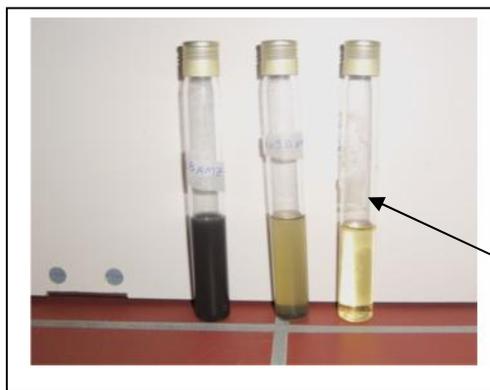


Figure 10: Aspect de la flore fongique sur milieu OGA

II.1.6. *Staphylococcus aureus*

Nous avons enregistré une absence dans 56,25% des échantillons et une présence dans 43,75% des échantillons (Figure 11, 12).



Témoin

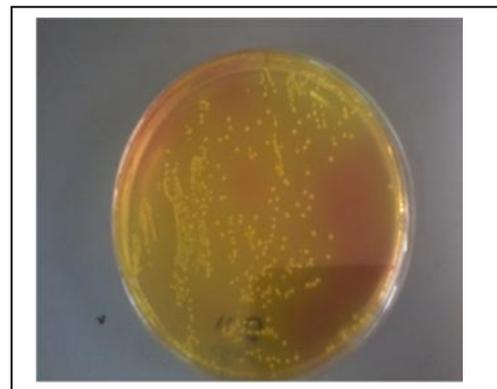


Figure 11 :Enrichissement des *Staphylococcus aureus* sur bouillon Gioliti Contoni

Figure 12:Aspect des colonies sur milieu Chapman

L'absence de *Staphylococcus aureus* est conforme à la norme annoncée par réglementation Algérienne (J.O.R.A., 1998).

II.1.7. Les coliformes fécaux

Nous avons enregistré une absence dans tous les échantillons du Iben contrairement aux études réalisées au Maroc par (Marnissi et al., 2013) et (Benkerroum et Tammime, 2004) qui ont trouvé $1,8.10^4$ UFC/ml.

Absence dans tous les échantillons du beurre sauf 02 B SET₁, où il ya présence d'*Echerichia coli* (Figure 13).



Figure 13 : Aspect d'*E. coli* sur milieu EMB

La présence de coliformes fécaux témoigne habituellement d'une contamination d'origine fécale (Elmund et al., 1999).

II.1.8. Les salmonelles

Nous avons enregistré une absence totale de ce germe dans tous les échantillons qui sont similaire aux normes établies par (J.O.R.A., 1998).

L'absence de ce germe est expliqué par l'abaissement du pH, en effet (Dubois et al., 1987) ont constatés que *Salmonella* ne résiste pas à des pH acide.

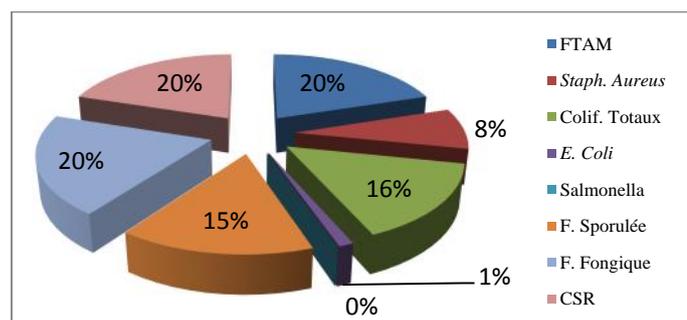
II.1.9. Clostridium sulfito-réducteur

Nous avons enregistré une absence totale de ce germe dans tous les échantillons contrairement à l'étude réalisée au Maroc par (Marnissi et al., 2013) qui a trouvé 1,8 UFC/ml. Les résultats obtenus répondent aux normes de la réglementation Algérienne (J.O.R.A., 1998).

III. Répartition des bactéries pathogènes dans différents échantillons

Elles sont réparties ainsi

Figure 14: Répartition des bactéries pathogènes dans les échantillons



Les flores dominantes possédantes un pourcentage de 20%, sont la FTAM, flore fongique, flore sporulée.

La flore qui a une faible concentration, c'est les coliformes fécaux. Absence totale des germes de Salmonelle et Clostridium sulfito- réducteur.

IV. Identification des isolats

IV.1. La flore lactique

- **Observation macroscopique**

Les résultats d'isolement sur milieu MRS, Mayeux et M17, ont permis de distinguer des colonies de tailles différentes, bien isolées, de forme circulaire et lenticulaire de couleur blanchâtre ou crémeuse (**Figure 15 et 16**).

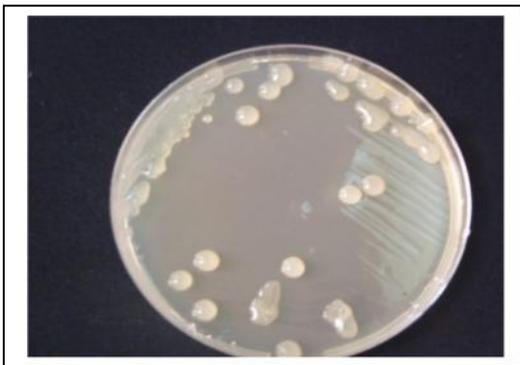


Figure 15: Aspect bombé de couleur crémeuse des colonies sur milieu Mayeux

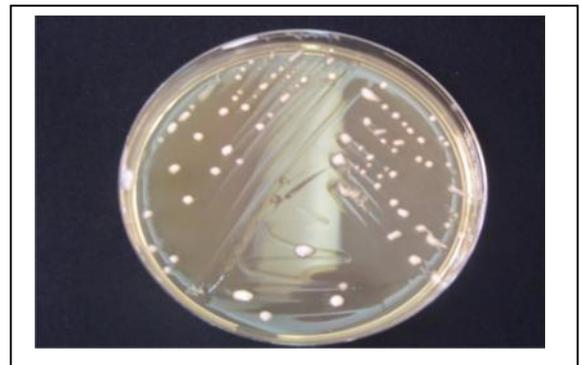


Figure 16 : Aspect des colonies sur milieu MRS

- **Observation microscopique**

Au cours de la purification des bactéries, nous avons retenu 61 isolats possédant les caractères suivants :

- Gram positif
- Catalase négative
- En forme de coques ou de bâtonnets disposées en paires ou en chaîne

En total, 15 bacilles et 46 cocci ont été isolés.

Ces observations permettent de classer initialement les isolats selon le Gram, leurs morphologies cellulaires, et leur mode d'association (Joffin et Leyral, 1996) (annexe 10)

- **Tests biochimiques et physiologiques des souches isolées**

L'identification des bactéries lactiques nécessite différents tests : la production de CO₂ à partir du glucose, l'action de la température et la concentration de NaCl sur leur croissance, et le profil fermentaire qui nous permet de déterminer les espèces des bactéries lactiques isolées (tableaux XII, XIII, XIV, XV).

Tableau XII: Les caractères physiologiques et biochimiques des 15 souches bacilles

Code de la souche		15 Lb ADK	12 B SET1	14 S ODG	14 S ODG	12 B SET1	14 S ODG	15 Lb 1 ADK	15 Lb2 ADK	15 Lb 3 ADK	15 Lb 4ADK	06 B 1 ADK	06 B 2 ADK	06 B 3 ADK	08 B AMZ	07 Lb AMZ
Production du gaz		-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+
pH	4,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	30°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Température	37°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	45°C	-	-	+	+	-	+	+	++	++	-	+	+	+	+	+
	63,5°C	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fermentation des sucres	Galactose	+	+	+	+	+	+	+	+/-	+/-	+	+/-	+/-	+/-	+	+
	Cellulose	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-	-
	Lactose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+/-	+	+	+	+	+	+
	Arabinose	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+
	Sucrose	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+

Les isolats en formes bâtonnets mésophiles (12 B SET₁, 12 B SET₁) et thermophiles (14 S ODG, 15 Lb 2 ADK, 15 Lb 3 ADK, 07Lb AMZ) sont hétéro-fermentaires (produisent du CO₂ à partir du glucose) appartiennent au groupe *Betabacterium*.

Les isolats en formes bâtonnets mésophiles (15 Lb1ADK, 15 Lb 4 ADK) sont homo-fermentaires font partir au groupe *Streptobacterium*.

Les isolats en formes bâtonnets thermophiles (14 S ODG, 15 Lb 1ADK, 15 Lb 2 ADK, 15 Lb 3ADK, 06 B1 ADK, 06 B 2ADK, 06 B 3ADK, 08 B AMZ) sont homo-fermentaires font parti au groupe *Thermobacterium* (Hammes et Hertel, 2003).

Tableau XIII : Les caractères physiologiques et biochimiques des 10 bactéries isolées sur milieu Mayeux

Code de la souche		11 Lb SET1	01 Lb SET1	06 B ADK	07 Lb AMZ	03 B SET2	02 B SET1	17 S ODG	01 Lb SET1	02 B SET1	06 B ADK
Production du gaz		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH	4,5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	9,6	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-
température	30°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	37°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	45°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	63,5°C	-	+	+	-	-	+	-	+	-	+
Concentration NaCl	3%	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	4%	++	+++	++	++	+++	++	++	++	++	++
	6,5%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fermentation des sucres	Galactose	+	/	-	+	/	/	+	/	+	+
	Cellulose	+/-	/	-	-	/	/	+/-	/	-	-
	Lactose	+	/	+	+	/	/	+	/	+	+
	Mannitol	+	/	+	+	/	/	+	/	-	+
	Arabinose	+	/	-	+	/	/	+	/	+	+
	Sucrose	+	/	-	+	/	/	+	/	+	+

Les résultats des tests physiologiques et biochimiques des isolats cocci mésophiles (tableau XIII) qui ne se développent pas à 45°C et qui sont hétéro-fermentaires montrent que ces isolats appartiennent au genre *Leuconostoc*.

Les cocci mésophiles homo-fermentaires (Lb, 11 Lb SET₁) qui ne poussent pas à 6,5% NaCl, appartiennent au genre *Lactococcus* (**tableau XIV**).

Les isolats homo-fermentaires (08 B AMZ ; 09 Lb1 SET2 ; 09 Lb2 SET2 ; 12 B SET1 ; 15 Lb ADK) se développent à 45°C, dans le milieu hyper-salé (4% et 6,5% NaCl), dans le milieu hyperalcalin (pH 9,6) (**Figure 17**) et sont thermorésistants font partie du genre *Enterococcus* (**Devriese et Pot, 1995**).

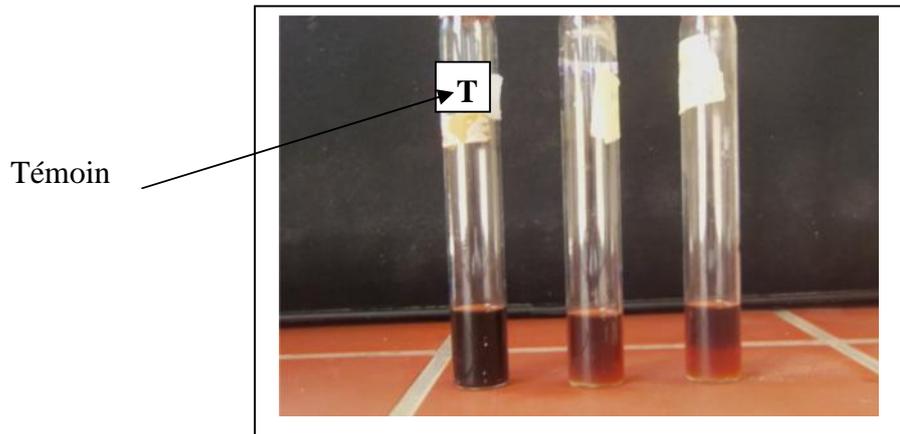


Figure 17: Croissance des souches sur bouillon
MRS hyperalcalin (pH 9,6)

Les cocci mésophiles hétéro-fermentaires (01 Lb SET₁ ; 12 Lb SET₁ ; 02 B SET₁ ; 12 B SET₁ ; 17 S ODG ; 02 B2 SET₁ ; 01 Lb 2 SET₁) ne se développent pas à 45°C, résistent à la vancomycine appartiennent au genre *Leuconostoc*.

37,5% des souches qui restent sont des cocci, homo-fermentaires appartiennent à d'autres genres.

Tableau XIV: Les caractères physiologiques et biochimiques des 24 bactéries isolées du milieu MRS

Code de la souche		08 B AMZ	02 B SET ₁	09 Lb SET ₂	09 Lb SET ₂	01 Lb SET ₁	MRS	09 Lb SET ₂	12 B SET ₁	Lb	15 Lb ADK	07 Lb AMZ	12 B SET ₁	13 Lb, TGZ (Châvre)	MRS	17 S ODG	02 B SET ₁	01 Lb SET ₁	12 B SET ₁	Lb	14 S ODG	11 Lb SET ₁	11 Lb SET ₁	15 Lb ADK	16 B ADK
Production du Gaz		-	++	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	++	+	+	-	-	-	-	-	-
pH	4,5	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
	9,6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Température	30°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	37°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	45°C	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
	63,5°C	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	++	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
Concentration NaCl	3%	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	++	++
	4%	++	+++	++	+++	+++	+	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+++	+++	+++	+	++	+++	+	+
	6,5%	+++	-	+	+	++	+++	++	++	-	-	-	++	+	+++	-	-	-	+++	+++	+	-	++	+	+
Fermentation des sucres	Galactose	+/-	+/-	+	+/-	/	+	+/-	+	/	+	+	+	+/-	+/-	+	+	/	+	+/-	+/-	+	+	+/-	+
	Cellulose	-	-	-	-	/	-	-	-	/	-	-	-	-	+/-	-	-	/	-	-	+/-	-	-	-	-
	Lactose	-	+	+	-	/	-	-	+	/	+	+/-	+	+	+	+/-	+/-	/	+	+/-	+	+	+	+/-	+
	Mannitol	+/-	+	+/-	-	/	-	-	+	/	+	+	+	+	+	-	+	/	+	+	+	+	+	+	+
	Arabinose	+	+	+	-	/	+	-	+	/	+	+	+	+	-	+	+	/	+	+	+/-	+	+	+	+
	Sucrose	-	-	-	-	/	+/-	-	-	/	+	+	-	-	-	+	-	/	-	-	-	-	-	-	-

Tableau XV: Les caractères physiologiques et biochimiques des 12 bactéries isolées du milieu M17

Code de la souche		02 B 1 SET	14 S, ODG	07 Lb AMZ	14 S ODG	09 Lb SET ₂	11 Lb SET ₁	17 S ODG	11 Lb SET ₁	10 B SET ₂	16 B ADK	17 S ODG	02 B 2 SET ₁
Production de gaz		+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+
pH	4,5	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+
	9,6	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+
Température	30°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	37°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	45°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	63,5°C	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+
Concentration	3%	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	4%	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	6,5%	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fermentation des	Galactose	/	-	/	+	+	+	-	+	/	+/-	+	+
	Cellulose	/	-	/	-	-	-	-	-	/	-	-	-
	Lactose	/	+	/	+	+	+	+	+	/	+	+	+
	Mannitol	/	+	/	+	+	+	+	+	/	+	+	+
	Arabinose	/	+	/	+	+	+	+	+		+	-	-
	Sucrose	/	+	/	+	+	+/-	-	+/-	/	-	+	+

16,66% des isolats du milieu M17 sont : homo-fermentaires, ne se développent à 45°C, dans le milieu hyperalcalin 9,6 et poussent à pH4, dans le milieu hyper-salé 6,5% appartiennent au genre *Pédiococcus*

83,33% des isolats du milieu M17 sont : mésophiles, hétéro-fermentaire, et ne poussent pas à 45°C appartiennent au genre *Leuconostoc*.

- **Résistance des *Leuconostoc* à la vancomycine**

Les résultats de l'antibiogramme révèlent que les souches du genre *Leuconostoc* isolés résistent à la vancomycine

- ❖ **Répartition des genres dans les échantillons**

Selon les caractères morphologiques, physiologiques et biochimiques, la répartition des genres dans chaque produit est résumée dans les (Figure 18 et 19). On remarque une dominance des cocci (*Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* et *Pédiococcus*) par rapport aux bâtonnets (*Lactobacillus*) dans les deux produits (lben et beurre). On note aussi la présence de ces cinq genres dans le lben par contre une absence de *Lactococcus* dans le beurre.

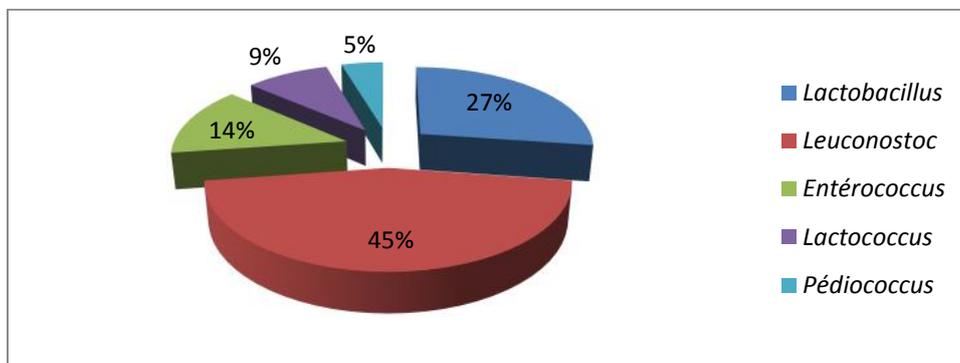


Figure 18: La répartition des souches isolées selon le genre à partir du lben

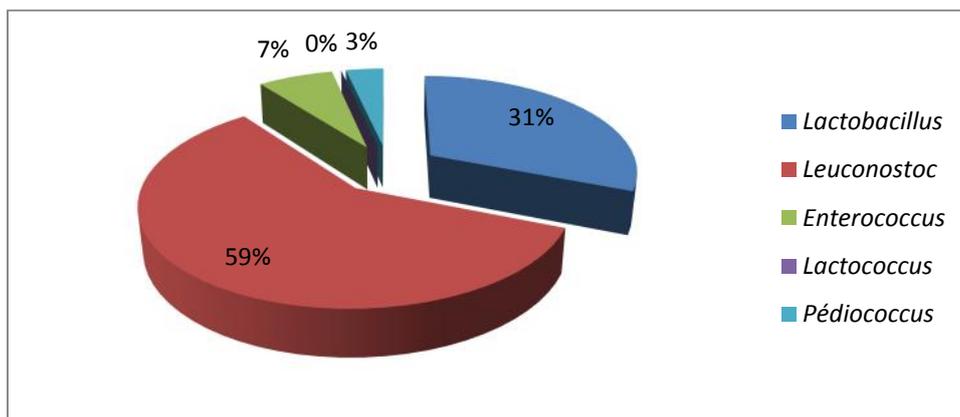


Figure 19: la répartition des souches isolées selon le genre à partir du beurre

IV.2. *Staphylococcus aureus*

La purification et l'observation microscopique nous a permis de retenir 15 isolats appartiennent au genre *Staphylococcus* (**tableau XVI**).

Tableau XVI : Résultats d'observation microscopique de 15 isolats

Code de la souche	Gram	Catalase	Forme	Mode d'association
08 B 1AMZ	+	+	Cocci	Amas, grappe de raisin
10 B SET ₂	+	+	Cocci	Amas, grappe de raisin
11 Lb SET ₁	+	+	Cocci	Amas, grappe de raisin
16 B ADK	+		Cocci	Amas, grappe de raisin
08 B 2AMZ	+	+	Cocci	Amas, grappe de raisin
09 Lb SET ₂	+	+	Cocci	Amas, grappe de raisin
13 Lb1 TGZ (chèvre)	+	+	Cocci	Amas, grappe de raisin
14 S 1 ODG	+	+	Cocci	Amas, grappe de raisin
14 S 2 ODG	+	+	Cocci	Amas, grappe de raisin
08 B 3 AMZ	+	+	Cocci	Amas, grappe de raisin
13 Lb 2 TGZ (chèvre)	+	+	Cocci	Amas, grappe de raisin
15 Lb ADK	+	+	Cocci	Amas, grappe de raisin
10 B 1SET ₂	+	+	Cocci	Amas, grappe de raisin
10 B 2 SET ₂	+	+	Cocci	Amas, grappe de raisin
10 B 3 SET ₂	+	+	Cocci	Amas, grappe de raisin

Après la purification et l'observation microscopique, les souches sont soumises à une série de tests (**tableau XVII**)

Tableau XVII : Résultats des tests biochimiques des *Staphylococcus aureus*

Code de la souche	Catalase	Mobilité	Coagulase	DNase	Type d'hémolyse	Thermo-résistance
08 B 1AMZ	+	-	+	+		+
10 B SET ₂	+	-	+	+		+/-

11 Lb SET₁	+	-	+	-		+
08 B 2 AMZ	+	-	+	+		+
09 Lb SET₂	+	-	+	-		+/-
13 Lb TGZT (chèvre)	+	-	+	+		+
14 S ODG	+	-	+	+		+
14 S ODG	+	-	+	+		+
08 B3 AMZ	+	-	+	+		+
13 Lb TGZT (chèvre)	+	-	+	-		+/-
15 Lb ADK	+	-	+	+		+
10 B 1SET₂	+	-	+	+		+
10 B 2 SET₂	+	-	+	+		+
10 B 3SET₂	+	-	+	+		+

Les souches possèdent une catalase positive, une coagulase positive (**Figure 21**), elles sont immobiles (**Figure 20**) et thermorésistantes.

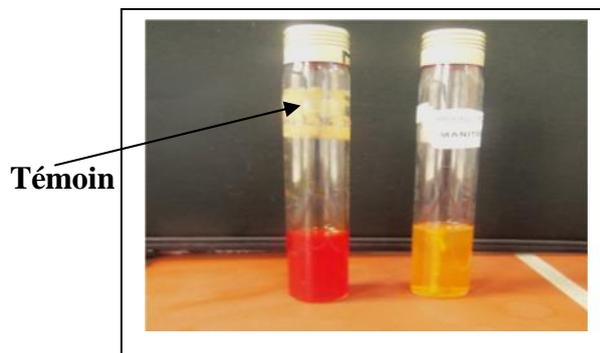


Figure 20: Aspect des souches immobiles sur milieu mannitol-mobilité



Figure 21 : Résultats du test de coagulase

Les souches (11 Lb SET₂, 09 Lb SET₂, 13 Lb TGZT) possèdent une DNase négative contrairement aux autres (**Figure 22**).



Figure 22: Résultats du test de DNase

Les souches (08 B 1AMZ, 08 B 2 AMZ, 13 Lb TGZ, 14 S ODG, 14 S ODG, 13 Lb TGZ, 08 B 3AMZ, 15 Lb ADK) ont un type d'hémolyse , par contre les autres sont hémolyse .

A la fin de l'identification, on a réalisé un antibiogramme dans le but de tester la résistance ou la sensibilité de *Staphylococcus aureus* en utilisant différents antibiotiques (tableau XVIII).

Tableau XVIII: Résultat d'antibiogramme

Code de la souche	P 10	A 10	OX 5	FOX	VA 30	PEF
08 B1 AMZ	R	R	R	R	S	IND
10 B SET ₂	R	R	S	R	S	R
11Lb SET ₁	R	R	S	R	S	R
16 B ADK	R	R	S	R	S	IND
08 B 2AMZ	R	R	R	R	S	R
09 Lb SET ₂	R	R	S	R	S	R
13 Lb TGZ (chèvre)	R	R	S	R	IND	R
14 S 1ODG	R	R	S	R	S	IND
14 S 2 ODG	R	R	S	R	S	IND
08 B 3AMZ	R	R	R	R	S	IND
13 Lb TGZ (chèvre)	R	R	R	R	R	IND
15 Lb ADK	R	R	S	R	S	R
10 B 1SET ₂	R	R	S	R	S	S
10 B 2 SET ₂	R	R	S	R	S	IND
10 B 3 SET ₂	R	R	S	R	IND	IND

R : Résistant, S : Sensible, IND : Indéterminé

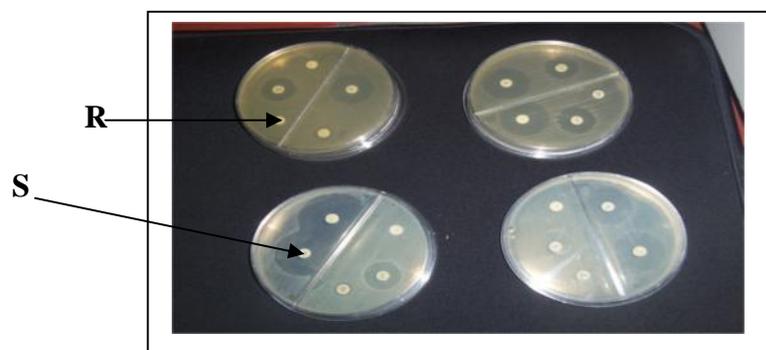


Figure 23: Résultat du test d'antibiogramme

Selon la société française de microbiologie d'antibiogramme, (2013) :

Les souches productrices de pénicillinase sont catégorisées résistantes à la pénicilline G si le diamètre des zones d'inhibition est $< 29\text{mm}$, le diamètre des zones d'inhibition de nos souches (14 S1 ODG ; 14 S 2OBG ; 10 B SET₂) est $< 29\text{mm}$ donc, elles sont résistantes à la pénicilline G.

Les souches (11Lb SET₁ ; 16 Br ADK ; 09 Lb SET₂ ; 14 S 1ODG ; 14 S2 ODG ; 13 Lb TGZT; 15 Lb ADK; 10 B 1 SET₂; 10 B 2 SET₂; 10 B 3 SET₂) ont un diamètre des zones d'inhibition 20mm donc, elles sont sensible à l'Oxacilline.

Les souches (11Lb SET₁ ; 13 Lb TGZT; 14 S ODG; 15 Lb ADK; 10 B 1SET₂; 10 B 2SET₂) ont des diamètres des zones d'inhibition $< 27\text{mm}$ donc, elles sont résistantes à la Céphoxitine, alors ces souches sont résistantes à la Méricilline.

Les souches (10 B 3 SET₂; 11Lb SET₁; 08 B AMZ; 09 Lb SET₂; 13 Lb TGZT; 15 Lb ADK) ont des diamètres des zones d'inhibition 22mm donc, elles sont résistantes à la Péfloxiline et la souche 10 B SET₂ a un diamètre < 16 donc, elle est sensible à la Péfloxiline.

Les souches (14 S ODG; 14 S ODG; 13 Lb TGZ; 08 B1 AMZ; 10 B 1SET₂; 10 B 2SET₂; 16 B ADK; 08 B2 AMZ) ont des diamètres des zones d'inhibition entre 16mm et 22mm donc, elles sont non déterminer à l'égard de Péfloxiline.

Les souches (08 B 1AMZ; 10 B SET₂; 11Lb SET₁; 16 B ADK; 08 B 2 AMZ; 09 Lb SET₂; 14 S ODG; 14 S ODG; 08 B 3AMZ ; 15 Lb ADK; 10 B 1SET₂; 10 B 2 SET₂; 10 B 3SET₂) ont des diamètres des zones d'inhibition 17mm donc, elles sont sensibles à la vancomycine.

La souche 13 Lb TGZ a un diamètre < 17 donc, elle est non déterminer.

La résistance aux antibiotiques est du à la nature de l'alimentation, traitement de l'animal et le trayeur par les antibiotiques.

IV.3. Les coliformes totaux

Durant la purification, l'observation microscopique nous a permis de retenir 06 isolats des coliformes (**tableau XIX**)

Tableau XIX: Résultats d'observation microscopiques des 16 isolats

Code de la souche	Gram	Catalase	Forme	Mode d'association
15 Lb ADK	-	+	Bacille (allongé)	Dispersés
03 B SET2	-	+	Bacille	Dispersé
02 B 1SET1	-	+	Co-bacille	Chainettes
03 B SET2	-	+	Bacille	Dispersé
02 B SET1	-	+	Co-bacille	Chainettes
15 LB ADK	-	+	Bacille (courte)	Dispersés
01 Lb SET1	-	+	Bacille (allongé)	Dispersés
04 Lb SET1	-	+	Bacille (allongé)	Dispersés
05 B SET1	-	+	Bacille	Dispersé
06 B ADK	-	+	Co-bacille	Chainettes
07 Lb AMZ	-	+	Bacille	Dispersé
08 B AMZ	-	+	Co-bacille	Chainettes
09 Lb SET2	-	+	Bacille (courte)	Dispersés
10 B SET2	-	+	Bacille (allongé)	Dispersés
12 B SET1	-	+	Bacille	Dispersé
16 B ADK	-	+	Co-bacille	Chainettes

Après la purification et l'observation microscopique, les souches sont soumises à une série de tests (**tableau XX**).

Tableau XX: Résultats des tests biochimiques des coliformes

Code de la souche	Catalase	Mobilité	Citrate Simmons	Uré-Indole	TSI					KIA			
					Glucose	Lactose	Saccharose	Gaz	Gaz H ₂ S	Glucose	Lactose	Gaz	Gaz H ₂ S
15 Lb ADK	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	++	-
03 B 1SET2	+	-	+	+	+	+	+	++	-	+	+	+	-
02 B1 SET1	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
03 B2 SET2	+	-	+	+	+	+	+	+++	-	+	+	+	-

02 B2SET1	+	+	+	+	+	+	+	++	-	+	+	+	-
15 Lb ADK	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	++	-
01 Lb SET1	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
04 Lb SET1	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
05 B SET1	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
06 B ADK	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
07 Lb AMZ	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
08 B AMZ	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
09 Lb SET2	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
10 B SET2	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
12 B SET1	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
16 B ADK	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-

56,25% des souches sont : catalases positives, immobiles, citrates Simmons positifs, glucose positif, lactose positif, saccharose positif, gaz positif, H₂S négatif, donc on présume qu'elles appartiennent à l'espèce *Klebsiella Oxytoca* (Guiraud, 2003).

43,75% des souches sont : catalase positive, mobiles, citrate Simmons positif, positif, lactose positif, saccharose positif, gaz positif, H₂S négatif ; donc on présume qu'elles appartiennent à l'espèce *Citrobacter Intermedius* (Guiraud, 2003).

Conclusion

Le travail réalisé est basé sur l'évaluation de la qualité physico-chimique et microbiologique du lben et du beurre fabriqués avec les méthodes traditionnelles, collectés au niveau de différentes régions de Béjaia (Souk-El Tenine, Amizour, Adekar, Oued Ghir, Taghzout).

Cette étude nous a permis d'avoir une idée sur la composition de la flore bactérienne (bactéries lactiques et bactéries pathogènes) du lben et du beurre.

Les résultats des analyses physico-chimiques (Détermination du pH et l'acidité Dornic) montrent des valeurs moyennes de 4,48 pour le pH et de 84,16°D pour l'acidité dornic, dans le lben et (4,65 ; 90,9°D) dans le beurre.

Un total de 61 isolats de bactéries lactiques (Gram positifs et catalase négative) ont été isolées.

La caractérisation physiologique et biochimique des souches bactériennes isolées a révélé qu'elles appartiennent aux cinq genres dans le lben: *Lactobacillus* (27%), *Lactococcus* (9%), *Leuconostoc* (45 %), *Enterococcus* (14%), *Pédiococcus* (5%) ; et quatre genre dans le beurre : *Lactobacillus* (31%), *Leuconostoc* (59%), *Enterococcus* (7%), *Pédiococcus* (3%).

Le dénombrement de l'autre flore microbienne, montre :

Pour le lben :

- ✓ FTAM : $1,92.10^8$ UFC/ml ;
- ✓ Coliformes totaux : $1,68.10^5$ UFC/ml
- ✓ Coliformes fécaux : absence ;
- ✓ Flore fongique : $1,28.10^5$ UFC/ml ;
- ✓ Flore sporulée : $4,94.10^4$ UFC/ml ;
- ✓ *Staphylococcus aureus* : 42,85%,
- ✓ Clostridium sulfito-réducteur et *Salmonella* : absence.

Des charges variantes dans le beurre

- ✓ FTAM : $9,76.10^7$ UFC/ml ;
- ✓ Coliformes fécaux : présence dans un échantillon ;
- ✓ Coliformes totaux : $5,81.10^4$ UFC/ml ;
- ✓ Flore fongique : $5,91.10^4$ UFC/ml ;

- ✓ Flore sporulée $6,36.10^4$ UFC/ml ;
- ✓ *Staphylococcus aureus* : 57,14;
- ✓ Absence totale de *Salmonella* et CSR.

Ces produits montrent une très grande diversité des germes qui dépend d'échantillon. Selon les résultats obtenus, certains échantillons ont une mauvaise qualité hygiénique.

Afin d'améliorer la qualité de ces deux produits, il faut :

- L'hygiène de l'environnement d'élevage ;
- La salubrité des sources de nourriture ;
- Une saine gestion du troupeau qui vise notamment le contrôle de la mammité ;
- L'utilisation de méthodes et de techniques de traite hygiéniques (propreté des animaux ; lavage ; désinfection) ;
- Sensibiliser les producteurs par la mise en place d'un programme de formation aux bonnes pratiques de production ;
- Améliorer les conditions de fabrication du lben et du beurre.

Au terme de ce travail, nous envisageons de continuer nos recherches sur certains axes pertinents relatifs aux microorganismes et qui méritent d'être étudiés :

- Etablissement de profil fermentation des sucres ;
- Réalisation d'autres tests d'identification
- Identification génétique des souches lactiques et pathogènes isolés ;
- Recherche de souches probiotiques à partir des produits laitiers traditionnels et criblage de souches productrices de bactériocines ;

Références bibliographique

Bibliographie

- **A**ggad H., Mahouz F., Ammar YA, Kihal M. (2009). Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest Algérien. *Rev. Méd. Vét.*, **160**, 590 – 595.
- **Ahmed AI., Mohammed A., Faye B., Blanchard L. et Bakheit S. A. (2010).** Assessment of quality of camel milk and gariss, north Kordofan State, Sudan. *Research Journal of Animal and Veterinary Sciences*, **5**(1), 18 – 22.
- **Alais C. et Liden G. (1997).** Lait et produits laitiers : Abrégé de Biochimie alimentaire. Ed. Masson (4^{ème} édition), 162 p.
- **Apfelbaum M. Romon M. (2009).** Diététique et nutrition. Ed Masson (2^{ème} édition).516p.
- **Axelsson L.T. (2004).** Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology. In *Lactic Acid Bacteria – Microbiology and functional aspects*, Edited by S. Salminen, A. v. Wright et A. Ouwehand, Marcel Dekker, Inc.**633**. 1- 66.
- **B**enkerroum N., Tantaoui A. et Elmarakchi A. (1984). Hygienic quality of marrocaïn Lben, *Food Microbiol* **2**, 199-206.
- **Benkerroum N. et Tammime A.Y. (2004).** Technology transfer of some traditional dairy products (Lben, jben,and smen) to small industrial scale. *Food Microbiol* **21**. 399-413.
- **Bouix, Leveau et Buysen. (1980).** Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires: Le contrôle microbiologique, V. 3. Collection Sciences et techniques agro-alimentaires, 331 p.
- **Balows A., Trupper H.G., Dworkin M. Harder W. et Schleifer K.H. (1992).** The prokaryotes. V. 11. Ed. Springer Verlage, New York.
- **Bourgeois L. J. (1980).** Performance and Consensus: Strategic Management. pp. 227-248.
- **C**arr Frank J.,Chill D et Maida N.(2002).The Lactic Bacteria :A Literature Servey. *Critical Review in Microbiology*, **28**(4) :281-370.

- **Cassinello J., Periera. (2001).** La qualité du lait et fromage dans cinq exploitations caprines de la serra do caldeirao. *Séminaires méditerranéens*, **46**,157-161.
- **Cossut J., Defrenne B., Desmedt C., Ferroul S., Garnet S., Roelstraete L., Vanuxeem M., Vidal D. et Humbert S. (2002).** Les Corps Gras : Entre Tradition et Modernité. Université des Sciences et Technologies de Lille. pp. 11-110.

- **D**elarras C. (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire : Aliments, produits cosmétiques, eaux, produits pharmaceutiques. Ed. Medical International, Lavoisier. 476 p.
- **Devriese et Pot (1995).** The genus *Enterococcus*. In genera of Lactic acid Bacteria. Edited by wood B.J.B. pp, 327-367.
- **Ducob P. et Mollet B. (2001).** Application of exopolysaccharides in the dairy industry In *Dairy* **11**. 759-768.

- **E**l Baradei et al.,(2008). Bacterial biodiversity of traditional Zabady fermented milk. *Food Microbiol* **121**. 295-301.
- **El Marrakchi A., Berrada M., Chahboun M. et Benbouhou M. (1986)** . Etude chimique du smen marocain. *Le Lait*. **66** (2), 117-120.
- **El Marnissi B., Belkhou R et al.,(2013).**Caractérisation microbiologique et physico-chimique du lait cru et de ses dirivés traditionnelles Marocaine. *Les technologies de laboratoire* **33**.100-112.
-
- **Elmund G., Allen M., et Rice E. (1999).** Comparison of *Escherichia coli*, total coliform and fecal coliform populations as indicators of wastewater treatmen efficiency. *Water Environ. Res.* **71**, 332-339.

- **F**AO. (1995). Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Série *FAO* : *Alimentation et nutrition*. **28**, 271 p.

- **G**ibert A. (1987). Technologies de conservation des produits alimentaires. Ed. Dunod. Paris.
- **Gibson G. R., and R. Fuller. (2000).** Aspects of in vitro and in vivo research approaches directed toward identifying probiotics and prebiotics for human. *Nutr.* **130**, 391–395
- **Gledel J. (1987).** Epidemiology and significance of listeriosis in France. *In: Schonberg A.* Institut Vet. Med. Berlin, pp. 9–20.
- **Gran H.M., Mutukumina A.N., Wethlesen A. et Narvhus J.A. (2002).** Smallholder dairy processing in Zimbabwe: the production of fermented milk products with particular emphasis on sanitation and microbiological quality. *Food control.* **13**, 161-168.
- **Guiraud J.P. (2003) :** Microbiologie alimentaire. Ed. Dunod, Paris.652p.
- **H**ammes et Hertel. (2003). The genera *Lactobacillus* and *Carnobacterium*: An Evolving Electronic Resource For the Microbiological Community. Edited by M. Dworkin. New York. pp. 53-61
- **Holzofel W.H., Haberer P., Geisen R., Bjorkth J. et Schillinger U. (2001).** Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *Am. J. Clin. Nutr.***73**, 365-373.
- **Heleni S., Lefki P., Nikolaos T. et Evanthia L.T. (2006).** Populations, Types and biochemical activities of aerobic bacteria and lactic acid bacteria from the air of cheese factories, *Dairy Technology* **3**. Vol. 59, 200-208
- **J**.O.R.A. (1993). Arrêté interministériel 18 août 1993. Spécification et présentation de certains laits de consommation. pp.16-20
- **J.O.R.A. n°35 (1998).** Arrêté interministériel du 24 janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires. pp.7-25.

- **J.O.R.A. n°32 du 23 mai 2004.** Arrêté du 27 mars 2004 rendant obligatoire une méthode de dénombrement des organismes microbiens pour le lait fermenté.
- **J.O.R.A. n°43 du 4 juillet 2004.** Arrêté du 24 mai 2004 rendant obligatoire de dénombrement des coliformes dans les laits fermentés.
- **J.O.R.A. n°70 du 7 novembre 2004.** Arrêté du 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°42 du 15 juin 2005.** Arrêté du 23 janvier 2005 rendant obligatoire une méthode de recherche des *salmonella* dans le lait et les produits laitiers.
- **Joffin J.N. et Leyral G. (1996).** Microbiologie technique : Centre Régional de Documentation Pédagogique d'Aquitaine. Bordeaux, France. pp. 219-223.
- **K**atinan et al., (2012). Evaluation de la qualité des laits caillés artisanax produits et consommés dans Yammoussouko. *Journal of Applied Biosciences* **55** : 4020-4027.
- **L**abioui H, Laarousi E, Benzakour A, El Yachioui M, Berny E et Ouhssine M. (2009). Etude physico-chimique et Microbiologique de laits crus. *Bull.Soc.* **148**, 7-16.
- **Larpent J. P. (1986).** Lait et produits laitiers non fermentés. Ed .technologie et documentation. Paris.
- **Larpent J.P. (1996).** Microbiologie Alimentaire: Aliments fermentés et fermentations alimentaires. Ed. techniques et documentation. Lavoisier, Paris. 117 p.
- **Larpent J.P. (1997).**Microbiologie alimentaire : techniques de laboratoire. Ed. Technologie et documentation. Lavoisier. Paris. 1073p.
- **Labussière J. (1985).** Composition du lait et techniques de traite chez quelques espèces domestiques. *Bull. Technologie.* **61**, 49-58.
- **M**adec J Y et al ., (2013).Comité de l'antibiogramme de la société Française de microbiologie. Paris .P.13 .

- **Masle I. et Morgane F. (2001).** Aptitude du lait de chèvre à l'acidification par les ferments lactiques : Facteurs de variation liés à la composition du lait, pp. 561-569.
- **Mathieu J. (1998).** Initiation à la physico-chimie du lait. ISBN 2.
- **Mathot A G., Kihal M ., Prevost H et Divies C.(1993).**Selective Enumeration of *Leuconostoc* on Vancomycin Agar Media .*Int. Dairy Journal* .459-169.
- **Metchnikoff E. (1908).** Optimistic studies New York. pp. 161-183.
- **Mongensen G. (1993).** Starter cultures. In *Smith*. Ed.Technology of reduced additive Foods,Blackie Academic and Professional. london. pp. 1-25.
- **Murano E A et Hudnall J. A. (2001).** Media, reagents, and stains. In: *Downes*, F.P., and K. Ito. Ed. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th edition. American Public Health Association, Washington. pp. 123-134
- **Müller T. (1990):** Comparaison of methods for differentiation between homofermentative and heterofermentative lactic acid bacteria. *Food Microbiol.***145**, 363 – 366.
- **N**akasaki K., Yanagisawa M. et Kobayashi K. (2008). Microbiological quality of fermented milk produced by repeated-batch culture. *Journal of Bioscience and bioengineering*, **105** (1): 73 – 76.
- **O**uadghiri M. (2009). Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés (Lben et Jben d'origine marocaine) : thèse de Doctorat en microbiologie et Biologie Moléculaire, Faculté des sciences Rabat, Maroc, 132p.
- **P**rescott L.M., Harlein J.P. et Klein D.A. (1999). Microbiology. Ed. Brown. 931p.
- **R**emeuf F. (1993). Influence du polymorphisme génétique de la caséine sur les caractéristiques physicochimiques et technologiques du lait. pp. 549-557.
- **S**tiles M. E. et Halzafel E.H. (1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Food Microbiol.* **36** (1): 1-29.

- **Saidi N., Guessas B., Bensalah F., Badis A., Hadadji M., Henni D.E., Prevost H. et Kihal M. (2002).** Caractérisation des bactéries lactiques isolées du lait de chèvres des régions arides, *Alg. Reg. Arides.* **1**, 1- 11
- **Sherman J.M. (1937).** The streptococci. *Bacterial. Rev* **1**(1) : 3-97.
- **T**antaoui-Elaraki, Berrada M., El Marrakchi A. et Berramou A. (1983a). Etude sur le lben marocain. *Le Lait*, **63**, 230-245.
- **Tantaoui-Elaraki, BerradaM, El Marrakchi A, et Berramou A. (1983b).** Préparation de lben marocain pasteurisé à l'aide de souches bactériennes sélectionnées. *Actes Inst. Agro. Vét.*, **3**, 49-58.
- **Tantaoui –Elaraki A. et El Marakchi A. (1987).** Study of the marocain dairy products Lben and Smen. *Mircon.* **3**, 211-220.
- **Tolle A. (1980).** The microflora of the udder. *Bull. Int Dairy Fed.* **120**: 4 -10.
- **V**andamme P. Pot, B. Gillis M. n de Vos, P. Kers lers et K.s Wings J. (1996). Polyphaiic taxonomy, a consensus approch to bacrerial systematic. *Microbial Rev* **60**, 407- 438.
- **Vierling E. (2003).** Les corps gras : Aliments et boissons (Filières et produits). Ed. Doin, 3ème édition. Paris. pp. 191- 192.

Annexes

Annexe 01

Matériels utilisés

- Boîtes de pétris stériles
- Tubes à essais stériles
- Pipettes pasteur
- Anse de platine
- Micropipettes
- Flacons stériles
- Epprouvettes
- Bec bunsen
- Balance électrique
- Spatule
- Fioles
- Bécher
- Plaques chauffantes et agitatrices
- Barreaux magnétiques
- pH mètre
- Autoclave
- Four pasteur
- Burette
- Seringues
- Bain marie
- Etuves à différentes températures

Réactifs

- Bleu de méthylène
- Lugol
- Fuchine
- Violet gentien

Annexe 02

Composition des milieux de cultures utilisés

L'eau physiologique	
Nacl	9g
Eau distillée	1000ml
PH = 7,25	

Milieu M17	
Tryptone	5g
Peptone de soja	5g
Extrait de viande	5g
Extrait de levure	2,5g
Acide ascorbique	0,5g
Sulfate de magnésium	0,25g
Glycerophosphate disodique	19g
Agar	15g
Eau distillée	1000ml
PH = 6,9+ 0,2	
Dans le cas de milieu M17 déshydraté 33,25 g/l	

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

Agar	15g
Eau distillée	1000ml
PH=6,2+ ₋ 0,2	
Dans le cas de bouillon MRS déshydraté 55,33g/l	

Milieu Chapman	
Peptone	10g
Extrais de viande	1g
Mannitol	10g
Chlorure de sodium	75g
Rouge de phénol	0,025
Agar	15g
PH=7,2	
Dans le cas de bouillon Chapman déshydraté 111g/l	

Milieu Mayeux	
Tryptone	10g
Gélatine	2,5g
Extrais de levure	5g
Glucose	5g
Saccharose	100g
Sodium citrate	1g
Azide de sodium	0,075g
Agar	15g
Eau distillée	1000ml
PH=6,90	

Gélose nutritive	
Extrais de levure	2g
Extrais de viande	5g
Peptone	5g
Nacl	5g
Agar	15
Eau distillée	1000ml
PH=7,2	
Dans le cas de gélose nutritive déshydraté 20g/l	

Milieu PCA	
Peptone	5g
Extrait de levure	2,5g
Glucose	1g
Agar	15g
Eau distillée	1000ml
PH=7,2	
Dans le cas de PCA déshydraté 23,5g/l	

Bouillon BHI	
Milieu BHI déshydraté	37g
Eau distillée	1000ml
PH=7,2-7,4	

Milieu EMB	
Peptone	10g
Lactose	10g
Eosine	0,4g
Bleu de méthylène	0,065g
Hydrogénophosphate de potassium	2g
Agar	15g
Eau distillée	1000ml
PH=7,2	
Dans le cas d' EMB déshydraté 37,95g/l	

Gélose OGA	
Oxytétracycline	0,1g
Extrait de levure	5g
Glucose	20g
Agar	15g
Eau distillée	1000ml
PH=6,6+-0,2	

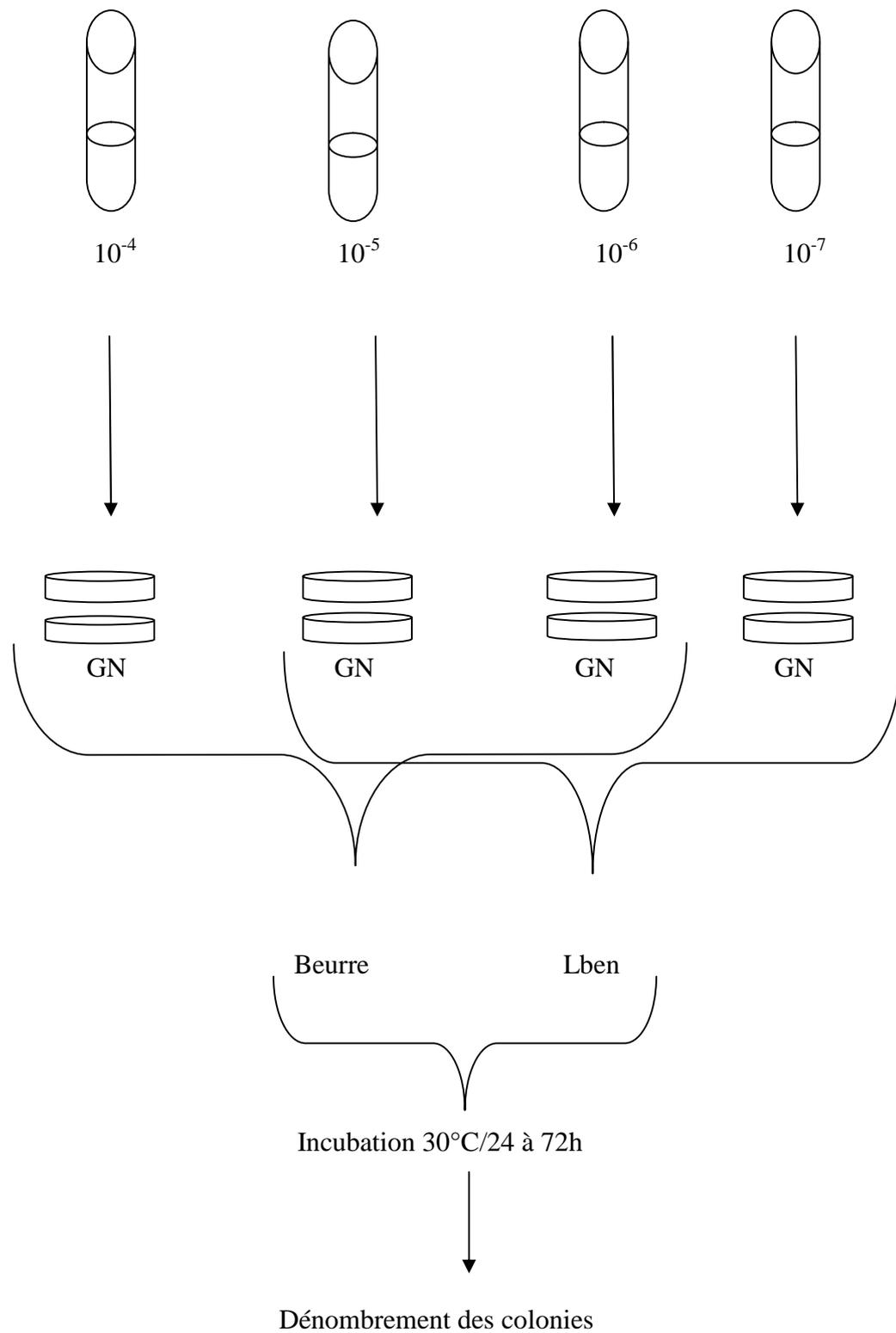
Gélose Slanetz	
Peptone	20g
Extrait de levure	5g
Glucose	2g
Phosphate dipotassique	4g

Azide de sodium	0,4g
T.T.C	0,1g
Agar	15g
Eau distillée	1000ml
PH=7,2+-0,1	

Gélose VF	
Peptone	20g
Extrait de levure	10g
Glucose	10g
Amidon	50g
Agar	15g
Eau distillée	1000ml
PH=7,6+-0,1	

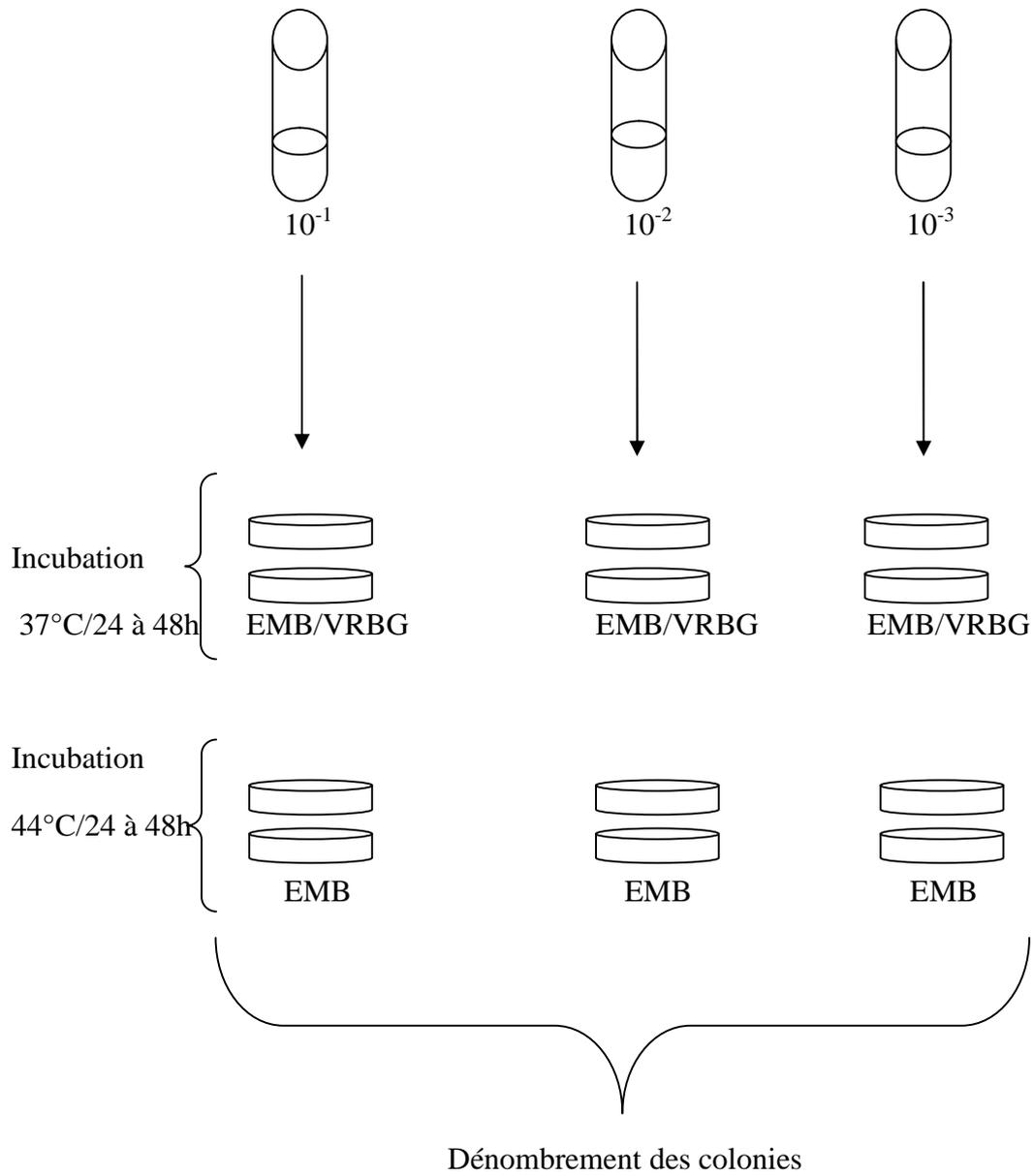
Annexe 03

Dénombrement de la flore aérobie mésophile totale du lben et du beurre

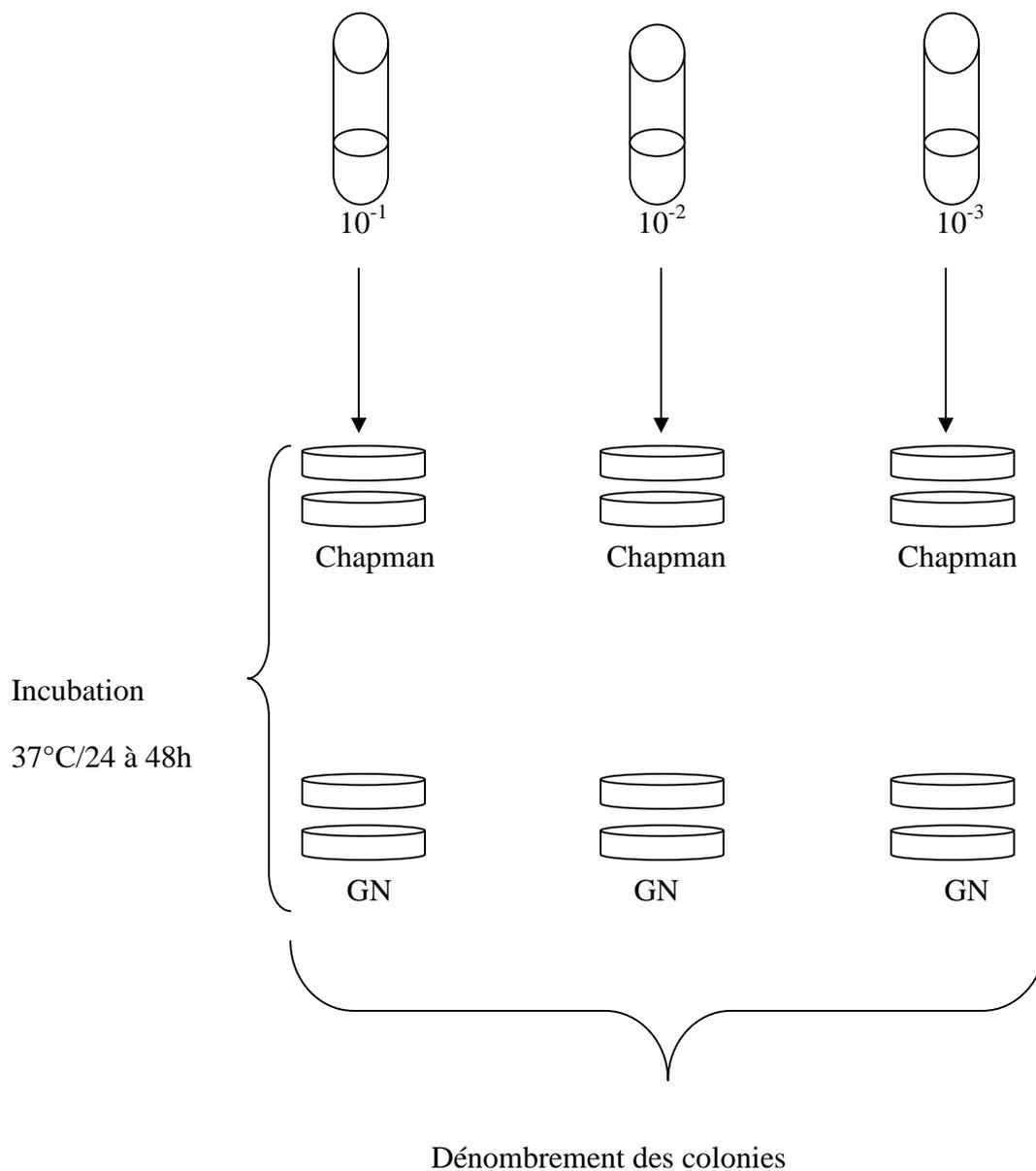


Annexe 04

Dénombrement des coliformes du lben et du beurre

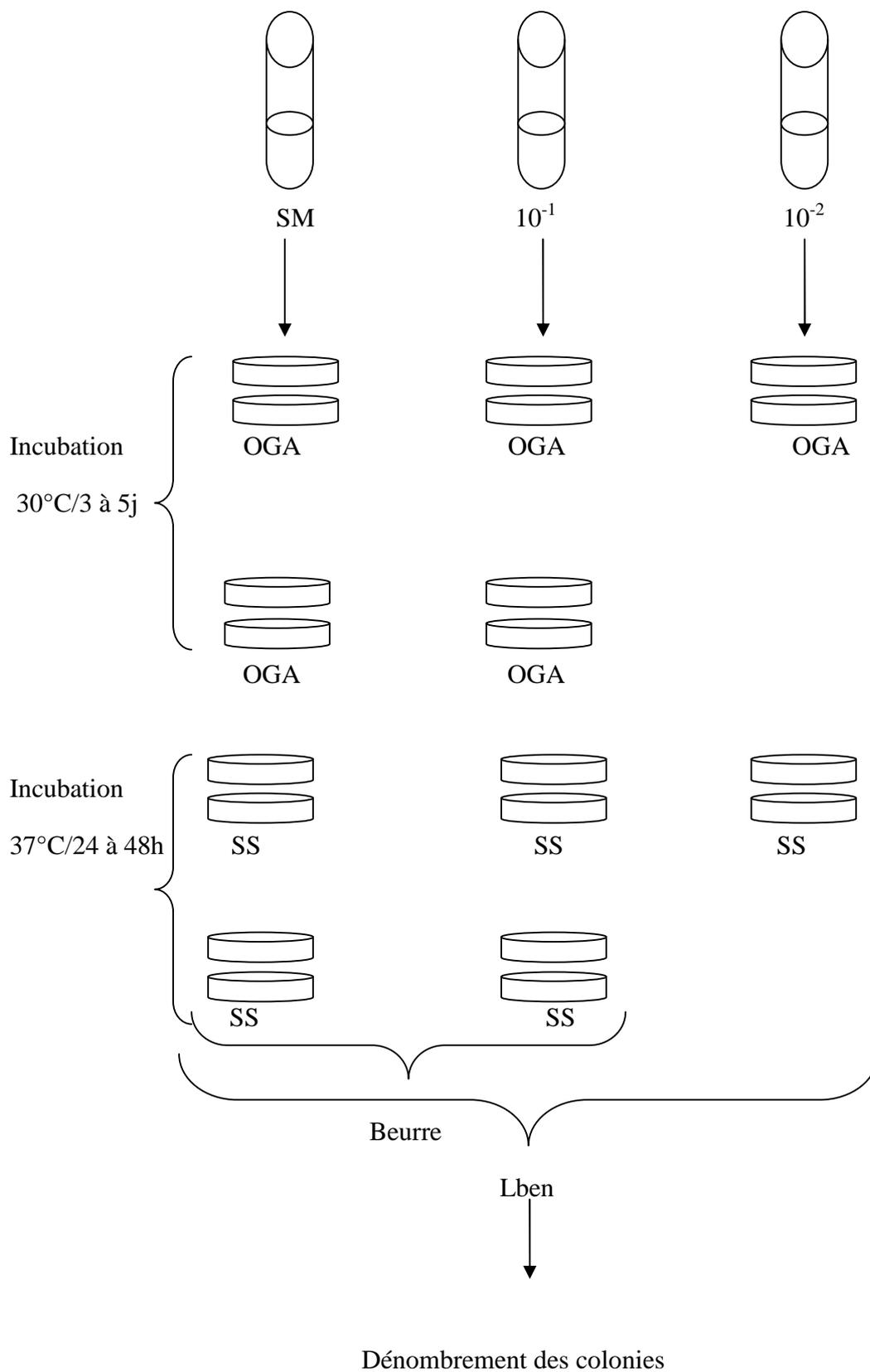


Annexe 05

Dénombrement de la flore sporulée, *staphylococcus aureus* du lben et du beurre

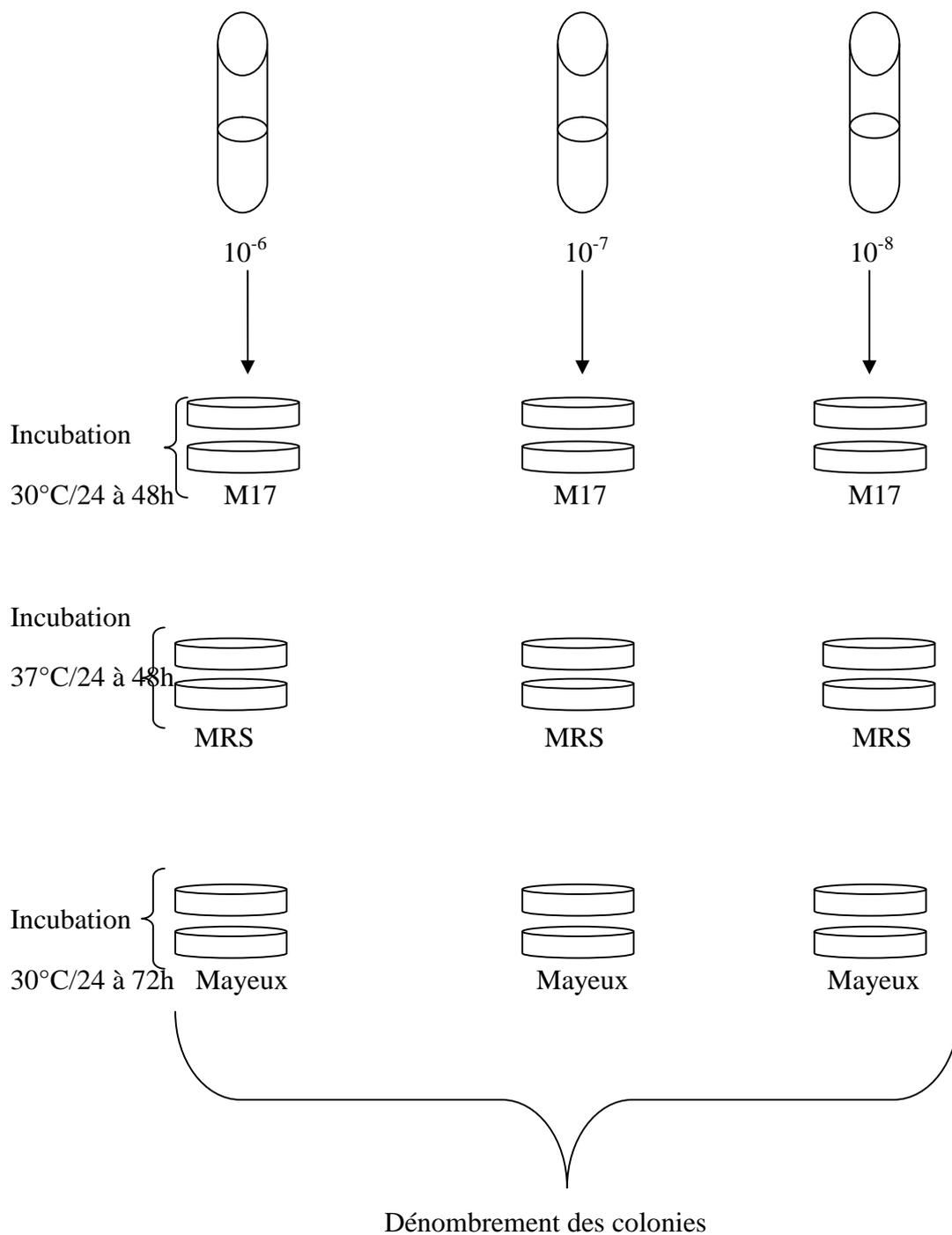
Annexe 06

Dénombrement de la flore fongique et salmonelles du lben et du beurre



Annexe 07

Dénombrement des bactéries lactiques du lben et du beurre



Annexe 08

Tableau I : Paramètres physico-chimiques du lben

Echantillon	pH	Acidité Dornique
01 Lb SET ₁	4,47	90°D
04 Lb SET ₁	4,44	97°D
11 Lb SET ₁	4,48	60°D
Moyenne SET₁	4,463	82,333
09 Lb SET ₂	4,95	102°D
07 Lb AMZ	4,65	105°D
15 Lb ADK	4,75	100°D
Moyenne totale	4,623	92,333
13 Lb TGZT (chèvre)	4,35	76°D

Tableau II : Paramètres physico-chimiques du beurre

Echantillon	pH	Acidité Dornique
02 B SET ₁ (J ₁₀)	4,66	100°D
05 B SET ₁ (J ₀₂)	4,32	100°D
12 B SET ₁	4,79	99°D
Moyenne SET₁	4,59	99,666
03 B SET ₂ (J ₁₀)	4,83	70°D
10 B SET ₂	5,00	80°D
Moyenne SET₂	4,915	75
06 B ADK ₁ (J ₁₇)	5,67	90°D
16 B ADK ₁	5,01	40°D
Moyenne ADK₁	5,34	65
08 B AMZ	4,72	50°D
Moyenne totale	4,816	148,9
14 S ODG (+ 1 année)	4,91	90°D
17 S ODG	4,25	100°D
Moyenne ODG	4,58	430

Annexe 09

Tableau III : Résultats de toutes les analyses microbiologiques des bactéries pathogènes

Prélevement	FTAM UFC/ml	<i>Staphylococcus aureus</i> UFC/ml	Coliformes totaux UFC/ml	Coliformes fécaux UFC/ml	Salmonelles UFC/ml	Flore sporulée UFC/ml	Flore fongique UFC/ml	CSR UFC/ml
01 Lb SET₁	$7,55.10^7$	Abs	$7,95.10^2$	Abs	Abs	$7,60.10^4$	$1,77.10^5$	Abs
02 B SET₁ (J₁₀)	$4,60.10^7$	Abs	$2,10.10^4$	Prés	Abs	$2,32.10^5$	$1,23.10^4$	Abs
03 B SET₂ (J₁₀)	8.10^7	Abs	5.10^3	Abs	Abs	$1,45.10^4$	$8,70.10^4$	Abs
04 Lb SET₁	$4,15.10^8$	Abs	$2,25.10^4$	Abs	Abs	$4,30.10^4$	$9,80.10^4$	Abs
05 B SET₁ (J₀₂)	$5,20.10^7$	Abs	$4,95.10^4$	Abs	Abs	$1,19.10^5$	$9,50.10^4$	Abs
06 B ADK₁ (J₁₇)	$4,50.10^7$	Abs	$2,80.10^4$	Abs	Abs	$1,50.10^3$	2.10^4	Abs
07 Lb AMZ	$9,43.10^7$	Abs	$5,60.10^5$	Abs	Abs	$3,30.10^4$	$2,70.10^4$	Abs
08 B AMZ	$1,47.10^8$	Prés	$2,30.10^5$	Abs	Abs	Abs	$1,73.10^4$	Abs
09 Lb SET₂	$2,22.10^8$	Prés	$3,60.10^5$	Abs	Abs	Abs	4.10^3	Abs
10 B SET₂	$2,20.10^8$	Prés	$1,37.10^5$	Abs	Abs	Abs	4.10^3	Abs
11 Lb SET₁	$2,98.10^8$	Prés	Abs	Abs	Abs	4.10^4	$2,76.10^5$	Abs
12 B SET₁	$1,28.10^8$	Abs	5.10^3	Abs	Abs	$7,30.10^4$	$7,30.10^4$	Abs
13 Lb TGZT (chèvre)	$1,23.10^8$	Prés	Abs	Abs	Abs	$9,48.10^4$	$1,46.10^5$	Abs
14 S ODG	5.10^6	Prés	Abs	Abs	Abs	Abs	$4,80.10^4$	Abs
15 Lb ADK₁	$1,15.10^8$	Prés	$2,32.10^5$	Abs	Abs	$2,12.10^4$	$1,70.10^5$	Abs
16 B ADK₁	$1,85.10^8$	Abs	$1,05.10^5$	Abs	Abs	$1,20.10^4$	$1,24.10^5$	Abs
17 S ODG (+ 1 année)	$6,78.10^7$	Abs	Abs	Abs	Abs	$1,84.10^5$	$1,09.10^5$	Abs

Tableau IV : Résultats de toutes les analyses microbiologiques des bactéries lactiques

Prélèvement	Milieu M17	Milieu MRS	Milieu Mayeux
01 Lb SET₁	10^9	10^9	10^9
02 B SET₁ (J₁₀)	$2,63.10^8$	$1,13.10^8$	$3,58.10^7$
03 B SET₂ (J₁₀)	9.10^7	1.10^7	$8,75.10^6$
04 Lb SET₁	$1,18.10^{10}$	$1,02.10^{10}$	$4,30.10^8$
05 B SET₁ (J₀₂)	1.10^8	1.10^8	$4,45.10^7$
06 B ADK₁ (J₁₇)	10^9	$1,80.10^{10}$	$4,95.10^9$
07 Lb AMZ	1.10^9	1.10^9	$1,27.10^{10}$
08 B AMZ	1.10^9	1.10^9	$4,95.10^9$
09 Lb SET₂	1.10^9	1.10^9	$8,13.10^9$
10 B SET₂	$6,55.10^9$	$1,07.10^{10}$	$5,95.10^8$
11 Lb SET₁	1.10^9	$1,04.10^{10}$	$1,25.10^{10}$
12 B SET₁	$1,76.10^{10}$	$4,45.10^9$	$7,35.10^9$
13 Lb TGZT (chèvre)	$3,76.10^9$	$9,30.10^9$	$5,53.10^9$
14 S ODG	$4,68.10^4$	$2,55.10^3$	$1,85.10^3$
15 Lb ADK₁	$5,96.10^9$	$3,47.10^9$	$1,03.10^{11}$
16 B ADK₁	$3,90.10^9$	$6,25.10^9$	$6,55.10^9$
17 S ODG (+ 1 année)	$4,36.10^5$	$2,90.10^4$	$3,16.10^5$

Annexe 10

Tableau V: Résumé de l'observation microscopique des 15 isolats.

Code de la souche	Gram	Catalase	Forme	Mode d'association
07 Lb AMZ	+	-	Bacille	Chainettes
06 B ADK	+	-	Co-bacille	Chainettes
06 B ADK	+	-	Co-bacille, bacille	Longues chainettes
06 B ADK	+	-	Bacille	Chainettes
08 B AMZ	+	-	Bacille	Longues chainettes
12 B SET₁	+	-	Bacille	Isolées, petites chainettes
14 S ODG	+	-	Bacille	Chainettes
14 S ODG	+	-	Bacille	Chainettes
15 Lb ADK	+	-	Bacille	Chainettes
15 Lb ADK	+	-	Longue bacille	Chainettes
12 B SET₁	+	-	Bacille	Chainettes
15 Lb ADK	+	-	Longue bacille	Chainettes
15 Lb ADK	+	-	Bacille	Chainettes
15 Lb ADK	+	-	Bacille	Chainettes
14 S ODG	+	-	Bacille	Chainettes

Tableau VI Résumé d'observation microscopique des 24 isolats.

Code de la souche	Gram	Catalase	Forme	Mode d'association
13 Lb TGZ (chèvre)	+	-	Cocci	Diplocoques, chainettes
12 B SET₁	+	-	Cocci	Diplocoques
11 Lb SET₁	+	-	Cocci (petite)	Diplocoques, longues chainettes
11 Lb SET₁	+	-	Cocci	Diplocoques, chainettes
12 B SET₁	+	-	Cocci	Diplocoques
12 B SET₁	+	-	Cocci	Diplocoques
15 Lb ADK	+	-	Cocci (ovoïde)	Diplocoques, petites chainettes
01 Lb SET₁	+	-	Cocci	Diplocoques
09 Lb SET₂	+	-	Cocci	Diplocoques, petites chainettes
01 Lb SET₁	+	-	Cocci (ronde)	Longues chainettes
02 B SET₁	+	-	Cocci	Diplocoques, petits amas
02 B SET₁	+	-	Cocci (ronde)	Longues chainettes
09 Lb SET₂	+	-	Cocci (ovoïde)	Diplocoques
08 B AMZ	+	-	Cocci (ovoïde)	Chainettes
07 Lb AMZ	+	-	Cocci	Petites chainettes
MRS	+	-	Cocci	Petites chainettes
MRS	+	-	Cocci	Diplocoques
Lb	+	-	Cocci	Diplocoques
Lb	+	-	Cocci (ronde)	Longues chainettes
09 Lb SET₂	+	-	Cocci (petite)	Diplocoques, longues chainettes
17 S ODG	+	-	Cocci	Diplocoques, chainettes
14 S ODG	+	-	Cocci	Diplocoques, petites chainettes
15 Lb ADK	+	-	Cocci (ovoïde)	Diplocoques, petites chainettes
16 B ADK	+	-	Cocci (ronde)	Longues chainettes

Tableau VII: Résumé de l'observation microscopique des 10 bactéries isolées du milieu Mayeux.

Code de la souche	Gram	Catalase	Forme	Mode d'association
01 Lb SET₁	+	-	Cocci (ovoïde)	Diplocoques, courtes chainettes, longues chainettes
06 B ADK	+	-	Cocci (ovoïde)	Diplocoques, chainettes
02 B SET₁	+	-	Cocci (ovoïde)	Diplocoques
02 B SET₁	+	-	Cocci (ovoïde)	Diplocoques, courtes chainettes
01 Lb SET₁	+	-	Cocci (ovoïde)	Diplocoques
07 B AMZ	+	-	Cocci (ovoïde)	Longues chainettes
11 Lb SET₁	+	-	Cocci (ovoïde)	Diplocoques, courtes chainettes
03 B SET₂	+	-	Cocci (ovoïde)	Diplocoques
17 S ODG	+	-	Cocci (petite)	Chainettes
06 B ADK	+	-	Cocci (petite)	Diplocoques, courtes chainette

Tableau VIII: Résumé de l'observation microscopique des 12 bactéries isolées du milieu M17.

Code de la souche	Gram	Catalase	Forme	Mode d'association
10 B SET₂	+	-	Cocci (ovoïde)	Diplocoques
11 Lb SET₁	+	-	Cocci (petite)	Diplocoques, chainettes
14 S ODG	+	-	Cocci	Diplocoques, petites chainettes
07 Lb AMZ	+	-	Cocci	Diplocoques, chainettes
02 B SET₁	+	-	Cocci	Diplocoques, chainettes, petits amas
09 Lb SET₂	+	-	Cocci (ovoïde)	Diplocoques, chainettes parfois en amas
17 S ODG	+	-	Cocci (ovoïde)	Diplocoques, chainettes, petits amas
17 S ODG	+	-	Cocci (ovoïde)	Diplocoques, chainettes, petits amas
11 Lb SET₁	+	-	Cocci (ovoïde)	Chainettes, petits amas
02 B SET₁	+	-	Cocci (sphérique)	Chainettes
16 B ADK	+	-	Cocci	Petites chainette
14 S ODG	+	-	Cocci	Diplocoques, chainettes

Annexe 11

Tableau IX: Résultat d'antibiogramme des *Staphylococcus aureus*

Code de la souche	P 10	A 10	OX 5	FOX	VA 30	PEF
08 B AMZ	R	R	R	R	22mm	20mm
10 B SET₂	R	R	40mm	R	30mm	40mm
11 Lb SET₁	R	R	29mm	10mm	18mm	30mm
16 B ADK	R	R	25mm	R	18mm	18mm
08 B AMZ	R	R	R	R	30mm	35mm
09 Lb SET₂	R	R	25mm	R	20mm	22mm
13Lb TGZ (chèvre)	R	R	28mm	19mm	10mm	30mm
14 S ODG	15mm	15mm	29mm	R	30mm	20mm
14 S ODG	10mm	10mm	21mm	5mm	25mm	20mm
08 B AMZ	R	R	R	R		20mm
13 Lb TGZ (chèvre)	R	R	R	R	R	18mm
15 Lb ADK	R	R	20mm	10mm	18mm	25 mm
10 B SET₂	R	R	30mm	10mm	35mm	15 mm
10 B SET₂	R	R	25mm	10mm	29mm	20 mm
10 B SET₂	10mm	10mm	25mm	R	20mm	20 mm

Résumé :

Dix sept échantillons du lben et du beurre provenant de cinq régions de Béjaia : Souk El Tenine, Adekar, Amizour, Oued Ghir, et Taghzout ont été analysés. Cela a été effectué au niveau de laboratoire de microbiologie de l'université A. Mira, Béjaia dans le but d'évaluer leur qualité physico-chimique et microbiologique.

Les résultats des analyses physico-chimiques (Détermination du pH et l'acidité Dornic) sont (4,48 ; 84,16°D) pour le lben et (4,65 ; 90,9°D) pour le beurre.

Les résultats des analyses microbiologiques du lben et du beurre sont respectivement (FTAM : $1,92 \cdot 10^8$ UFC/ml ; $9,76 \cdot 10^7$ UFC/ml), (Coliformes totaux : $1,68 \cdot 10^5$ UFC/ml ; $5,81 \cdot 10^4$ UFC/ml), (la flore fongique : $1,28 \cdot 10^5$ UFC/ml ; $6,36 \cdot 10^4$ UFC/ml), (la flore sporulée : $4,94 \cdot 10^4$ UFC/ml ; $5,91 \cdot 10^4$ UFC/ml), (*Staphylococcus aureus* : 42,85% ; 57,14%). Absence totale de *Salmonella* et CSR dans tous les échantillons, absence des Coliformes fécaux sauf dans un seul échantillon du beurre.

Concernant la flore lactique, une moyenne de $6,60 \cdot 10^9$ UFC/ml est enregistrée. Cinq genre bactériens sont identifiés à partir lben (*Lactococcus* 9% ; *Lactobacillus* 27% ; *Leuconostoc* 45% ; *Enterococcus* 14% ; *Pédiococcus* 5%), et quatre genre pour le beurre (*Lactobacillus* 31% ; *Leuconostoc* 59% ; *Enterococcus* 7% ; *Pédiococcus* 3%).

Mots clés : lben, beurre, méthodes traditionnelles, qualité physico-chimique, qualité microbiologique, bactéries lactiques, bactéries pathogènes

Abstract:

Seventeen of home-made lben and butter samples were collected in the Bejaia region: Souk El Tenine, Adekar, Amizour, Oued Ghir, and Taghzout. Physicochemical and microbiological analyses were investigated.

Mean values of pH and acidity investigated (4, 48; 84, 16°D) for the lben and (4, 65; 90, 9°D) for the butter.

Mean values of (FTAM: $1, 92 \cdot 10^8$ UFC/ml; $9, 76 \cdot 10^7$ UFC/ml), (coliforms: $1, 68 \cdot 10^5$ UFC/ml; $1, 5, 81 \cdot 10^4$ UFC/ml), (fungal flora: $1, 28 \cdot 10^5$ UFC/ml; $6, 36 \cdot 10^4$ UFC/ml), (*Staphylococcus aureus*: 42, 85%; 57, 14%), (sporulate flora : $4, 94 \cdot 10^4$ UFC/ml; $5, 91 \cdot 10^4$ UFC/ml) of the lben and the butter, respectively. Absence of *Salmonella*, CSR and *E. Coli* in all samples just in one sample of butter.

About the Lactic acid bacteria, mean value $6,60 \cdot 10^9$ UFC/ml was saved and divided in five genera for the lben (*Lactococcus* 9% ; *Lactobacillus* 27% ; *Leuconostoc* 45% ; *Enterococcus* 14% ; *Pédiococcus* 5%), and four genera for the butter (*Lactobacillus* 31% ; *Leuconostoc* 59% ; *Enterococcus* 7% ; *Pédiococcus* 3%).

Keys words: lben, butter, home-made methods, physicochemical quality, microbiological quality, lactic acid bacteria, pathogens strains.