



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بو عريريج

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques



# Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Sciences Biologiques**

**Spécialité : Microbiologie Appliquée**

## Thème

Caractérisation physico-chimique et microbiologique d'un fromage à pâte molle type *Camembert*: Isolement et identification partielle des flores lactiques thermophiles et leurs activités bactériocinogènes.

### Présenté par:

Mohamadi Meriem.  
Messaoudi Rim

### Devant le jury:

**Président:** Dr Boubellouta T.

**M.A.A. Univ de BBA**

**Encadrant:** Dr Merbai.A

**M.A.A. Univ de BBA**

**Examineur:** Mr Sadrati.N

**M.A.A. Univ de BBA**

Année universitaire: 2017/2018

# Remerciements

*Avant tout nous remercions "Allah" tout puissant qui nous a donné le courage, la volonté et la force pour accomplir ce modeste travail.*

*Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.*

*Nous tenons à remercier notre encadreur: Mr Meribai A.*

*d'avoir accepté de nous encadrer. Nous le remercions aussi pour le choix du sujet intéressant et d'actualité. Pour son aide, ses conseils, ses orientations et sa disponibilité.*

*Nous adressons nos plus vifs remerciements aux monsieurs:*

*Boubellouta T.et Sadrati.N, qui nous ont fait*

*l'honneur de jurer notre travail.*

*Nous adressons nos plus sincères remerciements à tous les enseignants de département de biologie qui, par leur enseignement, ont contribué à notre formation durant tout notre cursus universitaire.*

*Nous sommes particulièrement reconnaissantes aux ingénieurs de laboratoire et plus particulièrement: Khalil, Ameer,*

*Sabrina, Wassima et Hayat.*

*Nous remercions également à toute personne ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail*

*Merci à tous et à toutes.*

# Dédicaces

*J'ai le grand honneur de dédier ce modeste travail :*

*À mes très chers parents,*

*A celui qui a été toujours Mon support dans cette vie, celui qui me donne le courage éclatant pour continuer à chaque fois que j'ai l'impression de reculer...  
mon père Messaoud que DIEU vous protège*

*A celle qui était et qui restera mon soutien dans cette vie, à celle qui m'a renseigné comment aimer DIEU ; comment fait apparaitre le succès et la prospérité du sein du mal et des problèmes...à vous maman Dalila, que DIEU vous protège et vous donne la pleine santé et le plein bonheur du monde, de joie et d'attestations.*

*À mon cher frère,*

*A Mon très chers frère Ameer,*

*À mes chères sœurs,*

*Noor el Imene, Hala et son fils Dhia el dine*

*je vous réserve toujours une place dans mon cœur et mes pensées.*

*À ma grande famille Messaoudi et Saadi*

*Mes grands-parents, mes tantes, mes oncles ainsi que mes cousins et cousines.*

*A mes amies,*

*Meriem et Hassina.*

*Et tous mes Amis sans exception.*

*A tous les étudiants d'université de Bordj Bou Arreridj.*

***Rim***

# Dédicaces

*J'ai le grand honneur de dédier ce modeste travail*

*À mes très chers parents,*

*A celui qui a été toujours Mon support dans cette vie, celui qui me donne le courage éclatant pour continuer à chaque fois que j'ai l'impression de reculer...  
mon père Bachir que DIEU vous protège*

*A celle qui était et qui restera mon soutien dans cette vie, à celle qui m'a renseigné comment aimer DIEU ; comment fait apparaitre le succès et la prospérité du sein du mal et des problèmes...à vous maman Fatima, que DIEU vous protège et vous donne la pleine santé et le plein bonheur du monde, de joie et d'attestations.*

*A mon cher frère,*

*Abd Arrahim,*

*A mes chères sœurs,*

*Sara, Halima et Amina*

*Et ses petits: Mohamed, Oumaima, Anes et Soundous*

*Je vous réserve toujours une place dans mon cœur et mes pensées.*

*A ma grande famille Mohamadi et Khalfaoui*

*Mes grands-parents, Mes tante, mes oncles ainsi que mes cousins et cousines.*

*A mes amies,*

*Rim, Hassina, Samra, Mouna et Nawel.*

*Et tous mes Amis sans exception.*

*A tous les étudiants d'université de Bordj Bou Arréridj.*

***Meriem***

## Table des matières

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction ..... 1

### Première partie: Synthèse Bibliographie

Chapitre I Généralité ..... 3

I. Classification des fromages selon la pâte ..... 3

I.1. Fromage frais ou à pâte fraîche ..... 3

I.2. Fromage à pâte molle ..... 3

I.3. Fromage à pâte pressée ..... 3

I.4. Fromage fondu ..... 4

II. Procédés de fabrication fromagère ..... 4

III. Le fromage à pâte molle type *camembert* ..... 4

III.1. Définition ..... 4

III.2. Composition et valeur nutritionnelle ..... 5

III.3. Les étapes clés de la fabrication du *Camembert* ..... 5

Chapitre II ..... 8

I. Les bactéries lactiques ..... 8

I.1. Définition ..... 8

I.2. Caractères généraux des bactéries lactiques ..... 8

Habitat ..... 9

I.3. Taxonomie des bactéries lactiques ..... 9

I.4. Rôle des bactéries lactiques ..... 11

II. Bactéries propioniques (*Propionibacterium*) ..... 15

III. Microcoques et bactéries corynéformes ..... 15

IV. Levures ..... 15

V. Moisissures ..... 15

**Deuxième partie: partie expérimentale**

I. Matériels et méthodes.....	17
I.1. Matériels.....	17
Méthodologie de travail.....	18
I.2. Méthodes .....	19
I.2.1. Echantillonnage .....	19
I.2.2. Analyses physico-chimiques .....	19
I.2.2.1. La détermination du pH.....	19
I.2.2.2. Détermination de l'acidité en degré Dornic (°D) .....	19
I.2.2.3. Détermination de la conductivité.....	20
I.2.3. Analyses microbiologiques .....	20
I.2.3.1. Préparation de la solution mère et des dilutions décimales.....	20
I.2.3.3. Recherche et dénombrement des germes de contamination.....	21
I.2.3.3.1. Recherche et dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM).....	22
I.2.3.3.2. Recherche et dénombrement des levures et moisissures .....	22
I.2.3.3.3. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux.....	22
I.2.3.3.4. Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux .....	22
I.2.3.3.5. Recherche et dénombrement des <i>Staphylococcus aureus</i> .....	22
I.2.3.3.6. Recherche et dénombrement des <i>Clostridia sulfito-réductrices</i> (CSR).....	23
I.2.3.3.7. Recherche et dénombrement de <i>Salmonella</i> sp. ....	23
I.2.4. Dénombrement des flores associées aux fromages .....	23
I.2.4.1. Dénombrement des Lactobacilles et Streptocoques thermophiles .....	23
I.2.4.2. Isolement et purification des souches lactiques thermophiles.....	23
I.2.4.3. Conservation des souches lactiques.....	24
I.2.5. Etude des interactions entre des souches pathogènes et les souches lactique isolées .....	24
I.2.5.1. Préparation des pré-cultures des souches lactiques .....	24
I.2.5.2. Préparation des pré-cultures des souches indicatrices (pathogènes) .....	24
I.2.5.2.1. Origines des souches indicatrices .....	24
I.2.5.3. Exploraion des activités antagonistes des souches LAB thermophiles .....	25
I. Résultats .....	26
I.1. Analyses physicochimiques .....	26
I.1.1. pH .....	26
I.1.2. Acidité titrable .....	27
I.1.3. Conductivité électrique.....	27

I.2. Analyses microbiologiques .....	28
I.3. Exploration des charges en flores lactiques thermophiles .....	31
I.3.1. Dénombrement des bactéries lactiques thermophiles.....	31
I.3.2. Examen microscopique .....	33
I.3.2.1. Observation à l'état frais.....	33
I.3.2.2. Coloration de Gram.....	34
I.3.3. Purification des souches lactiques thermophiles .....	34
I.4. Pouvoir antagoniste, <i>In vitro</i> des bactéries lactiques .....	35
II. Discussion.....	37
II.1. Testes physicochimiques.....	37
II.2. Tests microbiologiques .....	38
II.3. Isolement, purification, caractérisation et identification des souches thermophiles .....	41
II.4. Les interactions .....	46
Conclusion.....	50
Perspectives .....	51
Références bibliographiques	
Annexes	

**Liste des tableaux**

<b>Tableau I</b>	Les quatre grandes étapes de la fabrication du fromage type <i>Camembert</i> (Eck et <i>al.</i> , 2006).....	<b>07</b>
<b>Tableau II</b>	Echantillonnage.....	<b>19</b>
<b>Tableau III</b>	Principaux germes recherchés, milieux de cultures et conditions d'incubation (Guiraud, 1998 ; Joffin, 1999 ; Lebrès et Hamza, 2002).....	<b>21</b>
<b>Tableau IV</b>	Conditions, l'isolement et conservation des souches indicatrices.....	<b>25</b>
<b>Tableau V</b>	Résultats des analyses physicochimiques des échantillons de camembert.....	<b>26</b>
<b>Tableau VI</b>	Résultat du contrôle de la qualité microbiologique.....	<b>28</b>
<b>Tableau VII</b>	Résultats de dénombrement des bactéries lactiques isolées de camembert.....	<b>32</b>
<b>Tableau VIII</b>	Résultats des interactions entre les souches lactiques thermophiles isolées et les souches indicatrices ( $\emptyset$ des zones d'inhibition en mm).....	<b>36</b>

**Liste des figures**

<b>Figure 2:</b>	Schéma illustrant les différentes étapes d'analyses suivies dans la partie pratique.	<b>18</b>
<b>Figure 2:</b>	Histogramme représentatif des variations des pH des échantillons analysées.	<b>26</b>
<b>Figure 3:</b>	Histogramme représentatif des variations de l'acidité titrable en °D des échantillons analysées.....	<b>27</b>
<b>Figure 4:</b>	Histogramme représentatif des variations de la conductivité en ms/cm des échantillons analysées.....	<b>27</b>
<b>Figure 5:</b>	Histogramme représentatif des résultats de dénombrement des FTAM.....	<b>29</b>
<b>Figure 6:</b>	Répartition des Coliformes totaux et des Coliformes fécaux présents dans les 06 échantillons du <i>Camembert</i> .....	<b>29</b>
<b>Figure 7:</b>	Histogramme représentatif des résultats de dénombrement des Streptocoques fécaux.....	<b>30</b>
<b>Figure 8:</b>	Histogramme représentatif des résultats de dénombrement de <i>S.aureus</i> .....	<b>30</b>
<b>Figure 9:</b>	Histogramme représentatif des résultats de dénombrement des levures et moisissure	<b>31</b>
<b>Figure 10:</b>	Histogramme représentatif des résultats de dénombrement des Streptocoques thermophiles et des Lactobacilles .....	<b>32</b>
<b>Figure 11:</b>	Répartition des Lactobacilles et des Streptocoques thermophiles présents dans les 06 échantillons du <i>Camembert</i> .....	<b>33</b>
<b>Figure 12:</b>	Aspect microscopique des Streptocoques thermophiles et des lactobacilles à l'état frais (G×40).....	<b>33</b>
<b>Figure 13:</b>	Vue microscopique des Streptocoques thermophiles (A) et Lactobacilles (B) après coloration de Gram (Gx40).	<b>34</b>
<b>Figure 14:</b>	Aspect des colonies des bactéries lactiques sur gélose M17 (A) et MRS (B).	<b>34</b>
<b>Figure 15:</b>	Zones d'inhibition entre les Streptocoques thermophiles et <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	<b>35</b>
<b>Figure 16:</b>	Zones d'inhibition entre les Lactobacilles et <i>Salmonella</i> sp. (A), les Streptocoques thermophiles et <i>S.aureus</i> (B).....	<b>35</b>

### Résumé

L'objectif de l'étude était l'évaluation des qualités physicochimiques et microbiologiques d'un fromage type *Camembert*, d'explorer les masses en flores lactiques thermophiles et d'évaluer leurs effets bactériocinogènes.

Six échantillons, du fromage type *Camembert*, ont été collectés du marché local de la wilaya de Bordj Bou Arreridj Nord Est d'Algérie durant la période Février-Avril 2018.

Les résultats des tests physico-chimiques ont donné les moyennes : pH 8,20 - 8,90 pour la croûte, 5,80 - 6,94 concernant la masse. Acidité titrable: 12 °D - 40 °D. Analyses microbiologiques ont donné en (UFC/g) Flore aérobie mésophile (FTAM:  $2.2 \times 10^7$  UFC/g), coliformes fécaux ( $2.9 \times 10^6$  UFC/g), coliformes totaux ( $8,72 \times 10^6$ ) Streptocoques fécaux ( $1.6 \times 10^6$  UFC/g), *Staphylococcus aureus* ( $7.6 \times 10^6$  UFC/g), Flore eucaryote ( $4.7 \times 10^5$  UFC/g) avec absence des spores.

Dénombrements des flores lactiques thermophiles associées au fromage, sur des milieux sélectifs: M17 et MRS, ont révélé une prédominance des souches *Streptococcus thermophilus* (83%) suivi par les isolats *Lactobacillus* sp. (17%)

L'interaction entre isolats lactiques et souches d'altération des fromages à Gram-: *Pseudomonas* sp., *Salmonella* sp., *Escherichia coli* et Gram+: *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus* sp., ont donné des zones d'inhibition ayant des diamètres cernés entre: 14 mm et 44 mm.

L'ensemble des échantillons du fromage, semble d'une qualité physico-chimique conforme aux normes nationales. Alors que, la qualité hygiénique était très en dessous des normes, marquant la présence des flores indicatrices des contaminations et des espèces toxigènes, reflétant un risque vital pour le consommateur.

L'étude mérite d'être complétée par un effectif élevé, un plan d'échantillonnage plus élargi, étalait sur plusieurs marques de fromages et leur matière première, dans des zones géographiques et sur les quatre saisons.

**Mots clé:** Camembert, Analyses Microbiologiques, Analyses Physicochimiques, Flores Lactiques, Antagonisme.

## **Abstract**

Cheeses are a rich and safe source for human nutrition. Study aimed to assess the physicochemical and microbiological qualities of soft cheese type *Camembert*, to explore thermophilic lactic flora numbers and to evaluate their bacteriocinogenic effects.

Six *Camembert* type cheese samples were collected from the market of the Bordj Bou Arreridj province North- Eastern of Algeria, during the months March-April 2018.

Results of Physico- chemicals tests gave: pH: (between 8.20 - 8.90 for crust, 5.80 - 6.94 for mass), Titratable acidity (between 12 °D and 40 °D). Microbiological analyzes in FCU/g mesophilic aerobic flora (FTAM:  $2.2 \times 10^7$  UFC / g), faecal coliforms ( $2.9 \times 10^6$  FCU/g), faecal Streptococci ( $1.6 \times 10^6$  UFC/g), *Staphylococcus aureus* ( $7.6 \times 10^6$  FCU/g), eukaryotic flora ( $4.7 \times 10^5$  CFU/g) and the absence of Sporogen species.

Enumerations of associated cheese thermophilic lactic flora, on selective media: M17 and MRS, revealed a predominance of *Streptococcus thermophilus* strains with (83%) followed by isolates *Lactobacillus* sp (17%).

Interaction between lactic isolates and Gram (-) cheese spoilage strains: *Pseudomonas* sp., *Salmonella* sp., *Escherichia coli* and Gram (+): *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* sp., gave inhibition areas with defined diameters between: 14 mm and 44 mm.

All samples seem to be of a physicochemical quality in accordance with national standards. While Microbiological quality was well below national standards, marking presence of flora indicative of contaminations and toxinogenic species, reflecting a vital risk for consumer. In perspectives: The study should be complemented by a larger samples size and sampling plan, covering several cheese brands and their raw material, geographical areas and the four seasons of year.

**Keywords:** *Camembert* cheese, Microbiological Analysis, Physicochemical tests, Lactic Floras, Antagonism.

## ملخص

تهدف الدراسة الى تقييم الجودة الفيزيوكيميائية و الميكروبيولوجية للجبن الطري من نوع كمبير, و اختيار بكتيريا لبنية ذات فوائد تكنولوجية و تثمين نشاطها التثبيطي البكتيريوسيني. عالجت هذه الدراسة 06 عينات، جُمعت من السوق المحلي لولاية برج بوعرييج، جنوب شرق الجزائر خلال شهر افريل 2018.

نتائج التحاليل الفيزيوكيميائية للجبن كانت كالتالي: درجة الحموضة ( 8,20 و 8,90) بالنسبة للطبقة الخارجية (القشرة) (5,80 و 6,94) للكثلة الداخلية، درجة الحموضة بين 12 و 40 درجة دورنيك. اظهرت التحاليل الميكروبيولوجية: متوسط الحمولة من البكتيريا الهوائية و القولونيات البرازية على التوالي: ( $2.2 \times 10^7$  UFC/g), ( $2.9 \times 10^6$  UFC/g).العقديات البرازية: ( $1.6 \times 10^6$  UFC/g) حقيقيات النواة: ( $4.7 \times 10^5$  UFC/g), بالإضافة الى عدم وجود الابواغ اما المكورات العنقودية الذهبية فكانت ( $7.6 \times 10^6$  UFC/g) .

تعداد المجموعات البكتيرية اللبنة المحبة للحرارة المرتبطة بالكمبير على اوساط زرع انتقائية : ( M17 و MRS) اثبتت هيمنة انواع: (*Streptococcus thermophilus*) بنسبة 83% متبوعة بأجناس: (*Lactobacillus sp*) بنسبة 17%.

التفاعلات العدائية.بين العزلات اللبنة و سلالات تلف الجبن ذات الغرام السلبى: *Staphylococcus sp., aureus* اعطت مناطق تثبيط ذات اقطار تتراوح بين 14مم و 44مم.

نتائج التحاليل الفيزيوكيميائية تبين ان المنتج يبدو ذو نوعية مطابقة, و تتماشى مع المعايير الوطنية, في حين كانت النوعية الصحية اقل بكثير من المعايير الوطنية مع تسجيل مجموعات بكتيرية مؤشرة على وجود تلوث و انواع من البكتيريا السامة مما يعكس اخطار على المستهلك.

هذه الدراسة تتطلب تعمقا أكبر عدد من العينات, لعلامات تجارية مختلفة, من الجبن و المواد الاولية, في العديد من المناطق الجغرافية و على مدار السنة.

**الكلمات المفتاحية:** جبن طري (كمبير), التحاليل الفيزيوكيميائية, التحاليل الميكروبيولوجية, مجموعات بكتيرية لبنية, تفاعلات عدائية.

**Liste des abréviations**

**%**: Pourcent.

**(-)**: absence.

**(+)**: présence.

**°C**: Degré Celsius.

**°D**: Degré Dornic.

**µl**: Microlitre.

**Aa**: acide aminé

**B.L** : Bactéries lactiques

**B.N**: Bouillon Nutritif

**BEA**: Bile à l'Esculine et à l'Azide de sodium.

**BMK** : bouillon Muller Kaufman

**C.F**: Coliformes Fécaux.

**C.S.R**: Clostridies Sulfito Réducteurs.

**Cd** : Conductivité.

**Cm**: Centimètre.

**CO<sub>2</sub>**: Dioxyde de carbone.

**CT**: Coliformes Totaux

**Db**: *Debaromyces*

**DLC**: Date limite de consommation.

**E. coli**: *Escherichia coli*

**E**: Echantillon.

**Ec**: *Enterococcus*

**EPS:** Exopolysaccharides

**EST:** Extrait Sec Total

**Ex:** exemple.

**FAMT:** Flore Aérobie Mésophile Totale

**G (-):** Gram negative

**G (+):** Gram positive

**G.C:** Giolitti Cantonni

**G.N:** Gélose Nutritive

**G.R.A.S:** Generally Recognized As Safe

**g/l:** Gramme par litre.

**G:** *Geotrichum*.

**g:** gramme.

**G+C:** Teneur en guanine et cytosine.

**GRAS:** Generally Recognized As Safe.

**GX:** Grossissement X.

**H:** heure.

**H<sub>2</sub>O:** Eau.

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** Peroxyde d'Hydrogène.

**HMF:** Homo-fermentaire.

**HTF:** Hétéro-fermentaire.

**KI:** Kleyveromyces.

**L:** Litre.

**LAB:** Lactic Acid Bacteria

**Lb:** *Lactobacillus*

**Lc :** *Lactococcus*

**M 17 :** Gélose de Terzaghi et Sandine.

**M.G :** Matière Grasse.

**m.g :** milligramme.

**M.H:** Mueller Hinton.

**m.m:** millimètre

**M17:** Gélose de Terzaghi et Sandine.

**Max :** Maximum.

**mg/l:** milli gramme par litre.

**MH:** Muller Hinton.

**Min :** Minimum.

**ml:** milliliter.

**mm:** millimeter.

**MRS:** Gélose de Man, Rogosa and Sharpe.

**MRS:** Man,Rogosa et Sharpe.

**N.D:** Non Déterminé.

**NaCl:** Chlorure de Sodium.

**NaOH:** Hydroxyde de Sodium.

**Ø :** diamètre.

**O<sub>2</sub>:** dioxygène.

**P :** *Penicillium*.

**P.C.R :** Polymérase Chain Réaction

**PCA:** Plant Count Agar.

**pH:** potentiel d'Hydrogène.

**Ps :** *Pseudomonas*.

**s:** Seconde.

**S:** *Staphylococcus*.

**Sal:** salmonella.

**SB:** SLANETZ et BARTLEY.

**SBA:** Surnageant Brute Actif.

**SF:** Steptcoques Fécaux.

**SFB:** bouillon au sélénite acide de sodium.

**SNV STU:** Science de la nature et de la vie science la terre et de l'univers

**sp:** espèce.

**spp:** sous espèce.

**St:** *Streptococcus*.

**T°C:** Température.

**UFC:** Unité formant colonie.

**V.F:** Milieu viande foie.

**Var :** Variété

**VRBG:** Gélose glucose biliée au cristal violet et au rouge neuter.

**X40:** Grossissement X40.

**Z.i:** Zone d'inhibition.

# *Introduction*

### **Introduction**

Le fromage a toujours été une valeur sûre de l'alimentation humaine. C'est le résultat d'une transformation laitière très ancienne, puisque des écrits témoignent de sa fabrication quelques trois- mille années avant notre ère, en basse Mésopotamie.

Source précieuse de protéines, (Chemache, 2011; O'Brien et O'Connor, 2017).

Le fromage est l'une des plus anciennes formes de la conservation du lait ou du moins des éléments susceptibles d'être conservés, au prix de fermentation que l'homme a appris à diriger (Eck et Gillis, 2006).

Le fromage est défini comme étant, un produit laitier coagulé, des différentes qualités, chacun ayant sa spécification. Ils varient par la nature du lait, par la teneur en matière grasse, en protéines et par le mode de préparation Coulon et *al.*, (2005). Parmi les types de fromage On note : Fromages frais, à pâtes pressées, à pâtes dures, à pâtes filées, les fromages fondus, ainsi que les fromages à pâte molle, à croûte lavée ou fleurie.

Les pâtes molles, sontensemencées en surface avec une moisissure qui provoque par affinage en cave, l'apparition d'une croûte (Guiraud, 2003). Le terme à pâte molle, s'applique à un fromage qui ne subit au moment de sa fabrication ni chauffage, ni pressage. La pâte est alors onctueuse voire coulante à pleine maturation du fromage. Le terme à croûte fleurie s'applique à un fromage dont la croûte est couverte de *Penicillium* qui lui donne un aspect duveteux blanc comme le *Camembert* (Lessard et *al.*, 2012; Leclercq- Perlat et *al.*, 2013; Lessard, 2014).

Le fromage type camembert, obtenu à partir du lait pasteurisé entier ou standardisé, coagulé par la pression ou à l'aide d'enzymes spécifiques et acidifiés (Hamama et *al.*, 1995). Le caillé obtenu est moulé, salé et affiné. L'acidification et l'affinage du camembert sont effectués par des levains industriels qui ont une grande importance dans l'économie et présentent une grande utilité du point de vue technologique. Ces levains sont fournis sous forme liquide ou lyophilisée pour permettre la fermentation lactique et le développement des propriétés organoleptiques typiques des camemberts. En effet, c'est à ce moment que la microflore secondaire se développe en utilisant les nutriments présents dans la matrice fromagère, en particulier les protéines et les lipides (D'Amico et Donnelly, 2017). La protéolyse et la lipolyse sont reconnues comme étant des voies majeures qui mènent à la production de divers composés d'arômes (Ganesan et Weimer, 2017).

En Algérie, la fabrication industrielle fromagère à pâte molle, utilise une flore lactique de souches acidifiantes mésophiles pour la technologie traditionnelle et de souches majoritairement thermophiles pour la technologie de type stabilisé; la proportion de ces

souches varie au cours de l'affinage, ainsi certaines souches sont présentes, alors que d'autres se succèdent au fil du temps (Dahou, 2017 ; Dahou et *al.*, 2017). L'usage industriel de ces souches lactiques implique des connaissances préalables relatives à leurs sélections, criblage et maîtrise de leur équilibre au cours de fabrication et maturation du fromage. En plus de l'importance de la haute valeur nutritionnelle du fromage, les caractéristiques Microbiologiques, physico-chimiques restent des éléments majeurs, de la qualité de fromage à pâte molle (Dib et *al.*, 2008). Une modification de certains paramètres physico-chimiques du fromage ; en particulier de la matrice protéique, peut être à l'origine d'une modification notable de la texture. En effet, le changement de la conformation et de la composition des protéines du fromage peut être dû à plusieurs facteurs, notamment ceux intervenant dans la conservation du fromage, tels que les microorganismes de l'affinage qui entraînent, par ses activités protéolytiques et désacidifiant, le ramollissement de la pâte du fromage et la sélection de la flore inhibant ainsi le développement des germes contaminants (D'Amico et Donnelly, 2017). De multiples formes végétatives et de résistance microbiennes peuvent échapper aux différents traitements thermiques lors de la fabrication du fromage. Ces derniers peuvent acquérir des mutations leurs permettant une croissance optimale sur la pâte du fromage et d'éviter l'action inhibitrice des flores eucaryotes adventice de la croûte et de s'échapper aux points critiques de control. Les fromages à pâte molle sont des vecteurs potentiels de la transmission des espèces pathogènes et/ou toxigènes à l'exemple: (*Salmonella* sp., *Escherichia coli*, *Listeria* sp. et *Staphylococcus* sp.) (Hait Jennifer B.S. 2012; Rosengren A, 2012). Le control de qualité microbiologique garantis un produit sain et exempt de risque pour le consommateur. De même les opérations de control de qualité physico-chimique permettent l'obtention d'un produit sans défauts organoleptiques ou rhéologiques.

Dans ce contexte précis, se focalise l'objectif de la présente étude, qui se veut une contribution primordiale à l'évaluation des qualités physico- chimiques et hygiénique, pour un effectif de six échantillons de fromage type: *Camembert*, collecté, durant le mois avril 2018, du marché local, dans la willaya de Bordj Bou Arreridj, Nord -Est Algérie, par :

- -Réalisation des tests physicochimiques (pH, acidité titrable, conductivité.)
- -Analyses Microbiologiques, par dénombrement des flores et espèces microbiennes, sur des milieux de culture d'enrichissement et/ ou sélectifs.
- -Comparaison des résultats des analyses susmentionnés aux normes nationales et internationales
- -Dénombrement des flores lactiques thermophiles, dominant la pâte des échantillons, l'exploration de leur antagonismes, diriger, *in vitro*, contre des isolats procaryotes, a Gram- et à Gram+, isolées aux fromages.

*Première partie :*  
*Synthèse bibliographique*

*Chapitre I :*  
*Généralités*

## **Chapitre I: Généralités**

### **I. Classification des fromages selon la pâte**

#### **I.1. Fromage frais ou à pâte fraîche**

Ce sont des fromages à égouttage, obtenus par centrifugation ou filtration. Ils subissent essentiellement une fermentation lactique (cependant il y'a souvent une légère action de la présure) et ne sont pas affinés. Leur humidité est élevée (70 à 75%), ils sont obtenus avec des laits pasteurisés (sauf dérogations) et conservés au froid. Ex: petit suisse, fromage demi-sel.

#### **I.2. Fromage à pâte molle**

Ce sont des fromages obtenus par action de la présure, qui subissent un affinage après la fermentation lactique, mais dont la pâte n'est ni cuite ni pressée. L'égouttage est lent et réalisé par un simple découpage et éventuellement un brassage. Leur humidité est moyenne (50 à 55%). Leur conservation est améliorée par le froid. On distingue:

- Fromages à pâte molle « moussée » généralement à croûte moisie Ex: *Camembert*, Brie, Carré, de l'EST.
- Fromages à pâte molle persillées (à moisissures internes) Ex: Roquefort et autres « bleu ».
- Fromages à pâte molle, à croûte lavée Ex: Munster-Livarot.

#### **I.3. Fromage à pâte pressée**

Ce sont des fromages obtenus par action de la présure, qui subissent un affinage après la fermentation lactique, sont obtenus par égouttage avec découpage du caillé, brassage et pression. Leur humidité est moyenne (45 à 50% pour les pâtes non cuites) ou faible (35 à 40% pour les pâtes cuites ou très brassées). Leur conservation est améliorée par le froid. On distingue:

- Le fromage à pâte ferme non cuite (pâte pressée et broyée) Ex: Cantal.
- Le fromage à pâte pressée non cuite et à croûte lavée. Ex: St-Paulin
- Le fromage à pâte pressée non cuite et à croûte artificielle. Ex: Edam
- Le fromage à pâte pressée non cuite et à croûte moisie Ex: St-nectaire. Tome de Savoie.

-Le fromage à pâte pressé cuite avec ouverture. Ex: Emmenthal, comte.

-Le fromage à pâte pressée cuite sans couverture Ex: Beaufort

-Le fromage à pâte pressé très dure (très brassées) Ex: Cheddar

#### **I.4. Fromage fondu**

Il s'agit de préparations issues de la fonte de fromage généralement à pâte pressée. (Guiraud, 2003).

## **II. Procédés de fabrication fromagère**

Il existe une très grande variété de fromages, selon la nature du lait et les technologies mises en œuvre.

La dénomination « fromage » est réservée au produit fermenté ou non, affiné ou non, obtenu à partir des matières d'origine exclusivement laitière suivantes : lait, lait partiellement ou totalement écrémé, crème, matière grasse, babeurre, utilisées seules ou en mélange et coagulées en tout ou en partie avant égouttage ou après élimination partielle de la partie aqueuse. (Eck et *al.*, 2006)

La fabrication de fromages comprend 5 grandes phases :

- Traitement thermique
- Standardisation
- Coagulation
- Egouttage
- Affinage

## **III. Le fromage à pâte molle type *Camembert***

### **III.1. Définition**

Le *Camembert* est un fromage à pâte molle, affiné en surface, principalement par des moisissures, conformément à la Norme générale pour le fromage, qui se présente sous la forme d'un cylindre plat ou de morceaux dit cylindre. La pâte a une couleur allant du blanc cassé au jaune pâle et une texture molle (lorsqu'on appuie dessus avec le pouce) mais non friable, affinée de la surface au centre du fromage. (Dahou et *al.*, 2017)

Les trous de gaz sont généralement absents, mais la présence de quelques ouvertures et fissures est acceptable. Une croûte molle, entièrement recouverte des moisissures blanches.

Le fromage entier peut être coupé ou formé en morceaux avant ou après le développement des moisissures.

### **III.2. Composition et valeur nutritionnelle**

Selon son mode d'élaboration, le *Camembert* renferme 30 à 50 % de matière azotée / matière sèche. Il s'inscrit ainsi parmi les meilleures sources alimentaires de protéines ayant une digestibilité élevée (Mietton, 1995).

De plus, la haute valeur biologique de ces protéines lui est conférée tant par leur composition équilibrée en acides aminés, que par leur propriété de former une pâte fromagère très appréciée par les consommateurs dans de nombreuses régions du monde.

La matière grasse du *Camembert* (25 à 40%) conditionne l'onctuosité de la pâte et constitue une source importante de la saveur particulière conférée au produit fini (Neelakantan *et al*, 1971).

Concernant le lactose, il faut noter que les fromages affinés sont pratiquement dépourvus de glucides car la faible quantité de lactose, restant dans le caillé après égouttage, est transformée en acide lactique au cours de l'affinage.

Pour les autres nutriments, le *Camembert* constitue un apport important en calcium. (200 à 700 mg/ 100g), en phosphore, en sodium et en vitamines (notamment du groupe B), (Eck, 1990).

Notons enfin que la dénomination petit *Camembert* est réservée à un fromage de diamètre réduit (80-85 mm de diamètre) dont l'extrait sec ne doit pas être inférieur à 60g.

### **III.3. Les étapes clés de la fabrication du *Camembert***

L'élaboration de ce type de fromage, à caractéristiques organoleptiques particulières, passe par la réussite de nombreuses étapes technologiques dont principalement : L'ensemencement –maturation, la coagulation, l'égouttage et enfin l'affinage.

#### **III.3.1. La phase d'ensemencement – maturation**

C'est l'étape d'introduction de la flore lactique sélectionnée qui va participer, d'une part, à la coagulation du lait (en provoquant l'acidification), et d'autre part, à l'affinage du fromage (rôle dans l'activité protéolytique).

Le lait (un petit volume) estensemencé par des ferments lactiques mésophiles, à une dose de 1,5 à 2% (Laithier, 2011). Un temps de maturation suffisant est laissé dans le but de permettre la multiplication et le développement des souches de bactéries lactiques inoculées (Larpen, 1997). Une fois ses souches revivifiées, le levain (tel que préparé) servira à ensemencer les grandes cuves de coagulation.

On introduit également des levains fongiques qui jouent un rôle important dans le phénomène de l'affinage. Il s'agit de spores de *Penicillium Camemberti*, *Penicillium caseicolum* ainsi que *Geotrichum candidum*.

### **III.3.2. La coagulation**

La coagulation se traduit par la formation d'un gel (ou coagulum) qui résulte dans le cas du Camembert, des modifications physico-chimiques qui interviennent autour des micelles de caséines et qui concourent à leur déstabilisation extrême.

Pour les fromages à pâtes molles, la coagulation est généralement mixte. Elle est provoquée par l'action conjuguée de la présure (coagulation enzymatique) et les bactéries lactiques (coagulation acide).

Dans le cas de la coagulation acide (provoquée par l'acide lactique d'origine bactérienne), l'abaissement du pH induit la solubilisation du calcium et du phosphate inorganique. Par équilibre, le pont salin dégarni peu à peu les micelles. Ces dernières, vont se lier entre-elles et former un gel cassant, très friable et peu élastique (Hardy J., 2004).

La coagulation enzymatique est quant à elle due à l'action de la présure qui est une enzyme protéolytique provenant de caillettes de veaux non sevrés. Cette enzyme correspond en réalité à deux fractions actives : l'une majeure (80 %), constituée par la chymosine, l'autre mineure (20 %), est représentée par la pepsine (Eck et Gillis, 2006).

Il a été établi qu'au cours de la coagulation enzymatique, la présure en hydrolysant la caséine au niveau de la liaison (Phe<sub>105</sub>- Met<sub>106</sub>), induit une déstabilisation des micelles de caséines qui vont peu à peu flocculer pour former un gel ferme, compact et ayant une bonne cohésion.

### **III.3.3. L'égouttage**

C'est l'étape qui permet la séparation du lactosérum du caillé. Son but est non seulement de régler la teneur en eau du caillé mais aussi la minéralisation de ce dernier et son délactosage.

Selon Beuvier (2004), il est possible de distinguer dans cette phase deux actions complémentaires :

- Expulsion du sérum par le coagulum qui se contracte et se concentre (synérèse) ;
- Séparation du sérum et du caillé par action physique.

La pâte obtenue est salée par addition de chlorure de sodium. Le sel inhibe certaines proliférations microbiennes, complète l'égouttage du caillé et relève la saveur du fromage. (Hardy, 1993).

### **III.3.4. Affinage des fromages**

L'affinage correspond à une phase de digestion enzymatique où sous l'action d'enzymes, pour la plupart élaborées par la flore microbienne présente, les constituants du caillé sont dégradés. La pâte est ainsi modifiée dans son aspect, sa texture

et sa consistance, ce qui lui permet de passer sous la forme d'un produit élaboré dénommé fromage.

Selon Desmazeaud et Cogan, (1996), L'affinage est en fait la résultante de trois principales actions biochimiques qui se déroulent simultanément à savoir :

- La dégradation des protéines ;
- L'hydrolyse de la matière grasse ;
- La fermentation du lactose.

La finalité de l'affinage est de diriger ces évolutions dans le sens souhaité ; il correspond principalement à des modifications de deux composants majeurs : protéines et matière grasse; protéolyse et lipolyse sont donc les phénomènes dominants de l'affinage, elles se traduisent par de profondes modifications de la composition physico-chimique du substrat, et par voie de conséquence, de celles de son aspect, de ses qualités organoleptiques, de sa digestibilité et de sa valeur nutritive.

**Tableau I** : Les quatre grandes étapes de la fabrication du fromage type *Camembert*. (Eck et al., 2006)

Etape :	Tranchage-égouttage-synérèse	Salage	Affinage-conditionnement
Ajout du ferment lactique	Décaillage du caillé ferme	Immersion en saumure saturée à 10 °C à 15°C maxi	Mise en hâloir pendant environ 9 jours à 10-14 °C.
Ajout du CaCl <sub>2</sub> (50ml pour 1000 litres de lait)	Brassage délicat après 15 min, puis intermittent jusqu'au moulage	Temps : 30 min, selon la taille des pièces de fromages	Humidité relative 90- et 95 %.
Maturation : 30 min	Mise en moule de grains fermes		Emballage et mise en chambre froide à 4-6 °C
Ajout de la présure 18 ml/100 kg de lait	Retournements périodiques (0,5, puis 2 et 3 h)		
Temps de coagulation : 35 à 60 min	Baisse régulière de la température		

*Chapitre II :*  
*Les bactéries lactiques*

## Chapitre II

### I. Les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des bactéries Gram positif produisant de l'acide lactique par fermentation des glucides simples tels que le glucose et le galactose (Axelsson, 2004). Elles se développent généralement dans des conditions anaérobies, voire anaérobies facultatives, et jouent un rôle majeur dans l'acidification du lait et du caillé. Ce sont également des agents de l'affinage des fromages, par leurs aptitudes protéolytiques et lipolytiques (développement du goût, des arômes et de la texture). (Singleton, 2002). Ces bactéries lactiques sont principalement constituées de *Lactocoques*, *Leuconostoc*, *Pédiocoques*, *Streptocoques thermophiles*, *Lactobacilles mésophiles* et *Entérocoques*.

Les bactéries lactiques sont des micro-organismes utiles à l'homme lui permettant de fabriquer et de conserver un nombre important de ses aliments. Elles sont surtout connues pour le rôle qu'elles jouent dans la préparation des laitages fermentés, elles sont utilisées également dans le saumurage des légumes, la boulangerie, la fabrication du vin, le saurissage des poissons, des viandes et des salaisons. Elles sont devenues les principaux candidats probiotiques et bénéficient d'un statut GRAS (Generally Regarded As Safe) (Tamime, 2002).

#### I.1. Définition

Les bactéries lactiques regroupent un ensemble d'espèces hétérogènes (Labioui et al., 2005). Ce sont des cellules vivantes, autonomes et procaryotes (Bergey's Manuel 1986-1989), dont le trait commun est leur aptitude à produire de l'acide lactique suite à la fermentation des glucides.

Cette transformation génère de une ou deux molécules d'ATP, en fonction de la voie métabolique homo ou hétérolactique (Carr et al., 2002)

**Voie d'Emden-Meyerhof** : homofermentation, dont laquelle l'acide lactique est le principale ou le seul produit du métabolisme excrété à partir du substrat (Cogan T.M., 1986).

**Voie de Dickens-Horecker** : hétérofermentation, conduisant à l'acide lactique en mélange avec d'autres produits d'excrétion comme le CO<sub>2</sub>, acide acétique, éthanol.

#### I.2. Caractères généraux des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des cocci ou des batonnets (Larpent, 1997) elles sont en générale aérotolérantes. Cependant certaines espèces habitant par exemple le tube digestif des animaux sont anaérobies strictes, même en présence d'O<sub>2</sub>, elles sont incapables de réaliser la phosphorylation oxydative. Elles sont Gram-positif; généralement immobiles et asporulées (Klaenhammert, 2000 et Luquet et al. 2005).

Elles ne possèdent ni catalase, ni nitrate réductase, ni Cytochrome oxydase. En plus de cela ne liquéfient pas la gélatine, ne produisent pas d'indole ni d'hydrogène sulfureux (Madingo et *al.*, 2004)

### **Habitat**

Les bactéries lactiques sont ubiquistes et on les trouve dans différentes niches écologiques comme le lait et les produits laitiers, les végétaux, la viande, le poisson, les muqueuses humaines et animales et dans le tractus digestif (Monnet et *al.*, 2008) et ont été également retrouvées dans le sol, les engrais, et les eaux d'égout (Singleton, 2002 et Tailliez, 2001).

### **I.3. Taxonomie des bactéries lactiques**

La taxonomie des bactéries lactiques a été basée sur la coloration de Gram et il est possible de les classer suivant la nature des produits du métabolisme bactérien obtenus à partir des glucides (Dellaglio et *al.*, 1994).

Les bactéries lactiques regroupent 11 genres dont les plus étudiés sont : *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Enterococcus* et *Pediococcus* (Guiraud, 2003).

#### **I.3.1. Le genre *Streptococcus***

Ces bactéries sont des cocci sphériques ou ovoïdes regroupées en paires ou en chaînettes, en générale immobiles, à partir des glucides leur métabolisme est homofermentaire, elles produisent un certain nombre d'agents antimicrobiens (Ouweland et *al.*, 2004).

Ces coques Gram+ à exigences nutritives parfois complexes se rencontrent dans des produits alimentaires riches (fromage). L'appellation « streptocoque » regroupe des genres très fréquents dans l'industrie alimentaire comme contaminants et surtout comme agents de fermentation lactique : *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Entérocooccus* (Rulf et *al.*, 2008 ; Zirnstein et *al.*, 2000).

#### **I.3.2. Le genre *Lactobacillus***

Le genre *Lactobacillus* est quantitativement le plus important des genres du groupe des bactéries lactiques (Ait-Belgnaoui et *al.*, 2005), leur morphologie microscopique varie d'une espèce à l'autre de coccobacilles aux bacilles fines et allongés (Dubernet et *al.*, 2008). On rencontre des *Lactobacillus* dans la flore intestinale et la flore vaginale (Singleton, 2002). Selon (Desmazeaud, 1998) Le genre *Lactobacillus* se subdivise en trois groupes:

- **Groupe 1:** *Thermobacterium*
- **Groupe 2:** *Streptobacterium*

•**Groupe 3: *Betabacterium***

Les lactobacilles sont des bacilles Gram positif, non mobiles, non sporulant, se développant dans des conditions micro aérophiiles à strictement anaérobies. Bien que certains travaux aient révélé la présence d'une catalase chez certaines souches de *Lactobacillus delbrueckii* sub sp.*bulgaricus*, les lactobacilles ne présentent généralement pas d'activité catalase. Ces bactéries lactiques se divisent en deux groupes homo et hétérofermentaires (Oyetayo et al., 2003).

Parmi les *Lactobacillaceae*, les espèces laitières les plus importantes sont : *Lactobacillus casei*, *Lb bulgaricus*, *Lb helveticus*, *Lb plantantarum* (Dubernet et al.,2008). Ces levains sont ajoutés au lait après la pasteurisation qui a détruit les bactéries présentes éventuellement pathogènes. Ils sont sous forme liquide, coagulés ou lyophilisés. L'importance d'un bon développement des levains lactiques et par leur degré d'acidification lactique conforme sans post-acidification. Les bactériophages constituent l'une des causes les plus importantes de perturbation de cette acidification et de l'égouttage, participation à l'obtention d'affaissement du fromage par une protéolyse accentuée et à l'ouverture des pâtes (Magnusson et al., 2001).

**I.3.3. Le genre *lactococcus***

Ce sont les streptocoques mésophiles (Alomar, 2007). Ils se présentent sous forme de coques, qu'on trouve isolés, en paires ou en chaînettes de longueur variable (Desmazaud, 1996), ce sont des organismes homofermentaires ne produisant que de l'acide lactique (Dellaglio, 1994). Ce sont des microorganismes mésophiles, à Gram positif, sans activité catalase, non mobiles et se présentant sous forme de coques disposés en paires ou en chaînettes. (Samarzija et al., 2001).

Les lactocoques contribuent ainsi à la protéolyse primaire des fromages. Cette action est mineure, la protéolyse primaire étant principalement réalisée par les enzymes natives du lait ou celles de la présure. D'autre part, l'autolyse précoce des lactocoques permet la libération d'autres enzymes intracellulaires telles que des protéinases, des peptidases, des lipases ou des estérases (Parente et al., 1994). Ces mécanismes d'autolyse dépendent des souches de lactocoques. De nombreuses études ont montré l'impact considérable de ces enzymes sur le développement de la texture des fromages pendant l'affinage, participation à la formation du goût (protéolyse, production d'arômes) (Rijnen et al.,2003).

## **I.4. Rôle des bactéries lactiques**

### **I.4.1. intérêt des bactéries lactiques**

Les bactéries lactiques jouent un rôle important que ce soit dans l'industrie alimentaire ou dans le domaine thérapeutique.

#### **I.4.1.1. Dans l'industrie alimentaire**

Les bactéries lactiques sont impliquées dans la fermentation et la bioconservation de différents aliments. Ainsi, les souches de *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* sont utilisées pour la production du yaourt, des fromages et des laits fermentés (Yateem et al., 2008). Le vin, les poissons, les viandes, les charcuteries, le pain, au levain entre autres sont aussi des produits de fermentations par des bactéries lactiques (Badis et al., 2005). L'utilisation de ces dernières a pour but d'améliorer les caractéristiques organoleptiques des produits fermentés et l'augmentation de leur durée de conservation, sans l'utilisation de conservateurs chimiques, grâce aux substances antimicrobiens qu'elles secrètent (Dortu et Thonart, 2009).

Les souches utilisées en industrie alimentaire doivent répondre à certains critères : absence de pathogénicité ou activité toxique, capacité d'améliorer les caractéristiques organoleptiques, capacité de dominance, facilité de culture et de conservation, et maintenance des propriétés désirables durant le stockage (Marth et Steele, 2001).

#### **I.4.1.2. Dans le domaine thérapeutique**

Étant des probiotiques, les bactéries lactiques apportent des bénéfices à l'hôte en conférant une balance de microflore intestinale, et en jouant également un rôle important dans la maturation du système immunitaire (Yateem et al., 2008).

Uehara et al., (2006) ont démontré la capacité des souches de *Lactobacillus crispatus*, utilisées sous forme de suppositoires pour empêcher la colonisation du vagin par les bactéries pathogènes et de prévenir ainsi les rechutes chez les femmes qui souffrent d'inflammations fréquentes et répétées de la vessie.

Différentes études ont démontré le rôle préventif aussi bien que curatif de ces bactéries sur plusieurs types de diarrhées (Mkrtchyan et al., 2010).

D'autres ont cité leur capacité de diminuer les allergies liées aux aliments grâce à leur activité protéolytique (El-Ghaish et al., 2011).

### **I.4.2. Rôle technologique**

#### **I.4.2.1. Aptitude acidifiante**

L'acidification est le rôle principal attendu des bactéries lactiques utilisées comme ferments. Elle constitue la propriété métabolique la plus recherchée en industries laitières.

Elle se manifeste par la production de l'acide lactique à partir de la fermentation des hydrates de carbone au cours de la croissance bactérienne (Mayra- Makinen et Bigret, 2004 ; Monnet et *al.*, 2008)

Celle-ci a différents buts : la déstabilisation des micelles de caséines et la coagulation du lait (en facilitant l'action de la présure lors de la fabrication des fromages), l'augmentation de la synthèse du caillé, la participation aux propriétés rhéologiques du produit final.

Les conséquences, d'ordre physico-chimique et microbiologique, peuvent se résumer ainsi par (Béal et *al.*, 2008) :

- L'accumulation d'acide lactique participant à la saveur des aliments fermentés.
- L'abaissement progressif du pH des milieux de culture et des matrices alimentaires.
- La limitation des risques de développement des flores pathogènes et l'altération dans les produits finaux.

Pour un ferment donné, il s'agit de permettre une vitesse d'acidification élevée et/ou d'atteindre un niveau d'acidité finale prédéfinie. Le niveau d'acidité dépend des spécifications du produit, lesquelles vont conditionner le choix des souches (Monnet et *al.*, 2008)

### **1.4.2.2. Activité bactériocinogène**

Les bactéries lactiques produisent une variété de composés antimicrobiens, qui sont utilisés dans la fermentation et la bioconservation des aliments (Labioui et *al.*, 2005).

Les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, le diacétyle et les bactériocines sont des molécules à action bactéricide ou bactériostatique synthétisées par les bactéries lactiques.

**Les acides organiques**, comme l'acide lactique, l'acide acétique ou l'acide propionique, sont produits par les bactéries lactiques, au cours du processus de fermentation alimentaire. Leurs effets antimicrobiens sont bien connus à l'heure actuelle (Davidson et *al.*, 1996). Ces acides organiques, sous leurs formes dissociées ou non dissociées, agissent au niveau de la membrane cytoplasmique bactérienne, en perturbant le maintien du potentiel de la membrane et en inhibant les systèmes membranaires de transport actif (Alakomi et *al.*, 2000). L'activité antimicrobienne, d'un acide organique dépend de sa nature (acide fort, acide faible) ; l'acide acétique, par exemple, est plus inhibiteur que l'acide lactique ; il inhibe les levures, les moisissures et les bactéries (Blom et Mortvedt, 1991).

**Le peroxyde d'hydrogène :** Les bactéries lactiques sont dépourvues de catalases, enzyme catalysant la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en eau et en oxygène.

En conséquence, l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> produit s'accumule dans l'environnement et peut inhiber certains microorganismes présents (Condon, 1987). L'action inhibitrice du peroxyde d'hydrogène est principalement due à son fort effet oxydant sur les lipides membranaires et les protéines cellulaires (Caplice et Fitzgerald, 1999).

**Le dioxyde de carbone :** Les bactéries lactiques hétérofermentaires synthétisent du dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) comme métabolite secondaire. Son accumulation dans le milieu extérieur crée une anaérobiose, qui peut être toxique pour les microorganismes aérobies présents dans l'aliment. Toutefois, le dioxyde de carbone peut aussi, à faible concentration, stimuler la croissance de certaines espèces lactières, à l'exemple des Lactobacilles (Lindgren et Dobrogosz, 1990).

**Le diacétyle** est un produit du métabolisme du citrate, qui est responsable de l'arôme (gout noisette) des beurres et des produits laitiers fermentés. Les bactéries à Gram négatif, les levures et les moisissures sont plus sensibles au diacétyle que les bactéries à paroi Gram positif. Le diacétyle inhibe la croissance en interférant probablement avec les mécanismes gouvernant l'utilisation de l'arginine (Motlagh et al., 1991). Toutefois, le diacétyle est rarement présent dans l'aliment en quantité suffisante pour y exercer une activité antimicrobienne importante (Caplice et Fitzgerald, 1999).

**Les bactériocines** produites par les bactéries lactiques sont des substances antimicrobiennes douées d'activité bactériostatique, qui contribuent à la préservation de l'équilibre microbien du fromage par l'inhibition de la croissance des germes pathogènes (*Listeria* et *Clostridium*). Cette caractéristique est utilisée industriellement pour la destruction des bactéries indésirables et pathogènes; c'est le cas de la nisine produite par les lactocoques qui est dirigée contre *Bacillus* et *Clostridium*, la plantaricine et la sakacine produites toutes les deux par les lactobacillus et qui sont actives sur *E.coli*, *Listeria* et certaines levures (Nes et al., 1996).

#### **I.4.2.3. Aptitude texturant**

La capacité des bactéries lactiques à synthétiser des exopolysaccharides (EPS) joue un rôle important pour la consistance et la rhéologie des produits transformés. Les *Lb.delbrückii* ssp. *Bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* produisant des EPS sont utilisés

dans la fabrication des yaourts, ceci afin d'améliorer la texture, éviter la synérèse et augmenter la viscosité des produits finis. L'utilisation des EPS produits par les souches *Lc. lactis* ssp. *Cremoris* est très prometteuse pour la structure et la viscosité des produits laitiers fermentés (Leroy et De Vuyst, 2004 ; Ho et al., 2007 ).

#### **I.4.2.4. Aptitude aromatisant**

Les bactéries lactiques sont capables de produire de nombreux composés aromatiques (tels que: l'a-acétolactate, l'acétaldéhyde, le diacétyle, l'acétoïne et 2-3butanediol, l'éthanol, l'acétate, le formiate,...etc), principalement à partir du lactose, du citrate, des Aa et des matières grasses. Cette fonctionnalité est particulièrement importante lors de l'élaboration des laits fermentés, des fromages frais, crèmes et beurre, dont l'arôme principal est lié à cette activité microbienne (Bourgeois et Larpent, 1996; Gerrit et al., 2005; Cholet, 2006).

#### **I.4.2.5. Aptitude protéolytique**

Les bactéries lactiques possèdent des protéases, des peptidases, nécessaires à la dégradation des protéines du lait en peptides et acides aminés. Ceux-ci peuvent alors être transformés en alcools et en acides. Cette activité protéolytique intervient de ce fait sur le rendement fromager, la texture et la saveur typique des fromages et par conséquent sur les caractéristiques du produit final (Chahbal et al., 1991 et 1993).

Dans les fromages, l'activité des enzymes protéolytiques des bactéries lactiques est fondamentale car elle va participer à la formation du goût ou des arômes: la protéolyse due aux bactéries lactiques va surtout conduire à des peptides courts et à des acides aminés libres.

Ces derniers sont des précurseurs pour de nombreux produits d'arômes. En effet, la méthionine peut conduire à des composés sucrés caractéristiques. Ceci après leur dégradation par la flore d'affinage (Schirch et al., 1985 et Ott et al., 1997).

#### **I.4.2.6. Aptitude lipolytique**

Les propriétés lipolytiques sont généralement faibles chez les bactéries lactiques, les lactocoques sont considérés comme plus lipolytiques que *Streptococcus thermophilus* et les lactobacillus. Elles peuvent cependant présenter un intérêt pour certaines applications fromagères (Béal et al., 2008).

D'une manière générale on distingue les estérases qui hydrolysent de façon préférentielle les esters formés avec les acides gras à chaîne courte (C2-C8) et les lipases qui sont actives sur des substrats émulsifiés contenant des acides gras à chaîne longue (>C8), ces enzymes sont impliquées dans l'hydrolyse de mono, di, et triglycérides (Béal et *al.*, 2008; Serhan et *al.*, 2009).

## **II. Bactéries propioniques (Propionibacterium)**

Les bactéries propioniques sont de germes anaérobies, fermentant les lactates en acide propionique, acide acétique et gaz carbonique. Ces germes sont responsables de l'ouverture des pâtes cuites et contribuent à la formation de la saveur et de l'arôme. L'amélioration de la qualité bactériologique des laits, le traitement thermique 76°C/16 s et la dégermination centrifuge ont pour effet de réduire la population propionique originelle des laits. Aussi, il est nécessaire de faire un ensemencement du lait de fabrication avec un levain pour obtenir une ouverture suffisante et un profil fermentaire normal. (Dahou, 2017)

## **III. Microcoques et bactéries corynéformes**

Ces bactéries de surfaces sont aérobies et halophiles ; elles sont dotées d'activités protéolytiques et lipolytiques et ont une certaine aptitude à la dégradation des acides aminés. On les rencontre à la surface de divers types de pâtes telles que les pâtes molles à croûte fleuris ou croûte lavée, pâtes pressées à croûte emmorgée. *Brevibacterium linens*, caractéristique par sa couleur orangé due à des pigments caroténoïdes, est l'espèce la plus fréquente et répandue des corynéformes. (Dahou, 2017)

## **IV. Levures**

Ces micro-organismes s'adaptent à des substrats variés (air, sol, plantes, eau, ensilage, lait, etc.). On remarque que l'appartenance de *Geotrichum candidum* au sein du groupe des levures est maintenant admise.

On les rencontre surtout à la surface des fromages et ils jouent des rôles variés : désacidification des pâtes par consommation d'acide lactique, formation d'éthanol et de produits secondaires par fermentation du lactose, estérification, actions protéolytiques et lipolytiques. Comme dans le cas des ferments propioniques, ils peuvent être introduits directement dans le lait. (Dahou, 2017)

## **V. Moisissures**

Elles sont représentées principalement par les deux espèces du genre *Penicillium* apportés par les levains fongiques :

- *Penicillium camemberti* : moisissure superficielle des pâtes molles de type camembert, elle assure la désacidification de la pâte (consommation de l'acide lactique et dégradation des protéines), l'hydrolyse des triglycérides et l'oxydation des acides gras.
- *Penicillium roqueforti* : moisissure interne des pâtes persillées, elle est également dotée d'activités protéolytiques et lipolytiques ainsi que de l'aptitude à la dégradation oxydative des acides gras. (Dahou, 2017)

*Deuxième partie :*  
*Partie expérimentale*

*Chapitre I :*  
*Matériels et Méthodes*

## **I. Matériels et méthodes**

### **Lieu de l'étude :**

L'intégralité de cette étude a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie ainsi qu'au laboratoire de chimie, de la faculté SNV STU relevant de l'université de Bordj Bou Arreridj, durant la période Février-Mai de l'année 2018.

Cette étude a nécessité le recours aux matériels et aux méthodes analytique indiquées ci-après.

### **I.1. Matériels**

Le matériel, l'appareillage, les réactifs et produits chimiques utilisés dans la présente étude sont cités dans l'annexe I Les milieux de culture ainsi que leurs compositions sont décrits dans l'annexe I.

## Méthodologie de travail

La méthodologie de travail adoptée dans cette étude est récapitulée dans la figure 1.

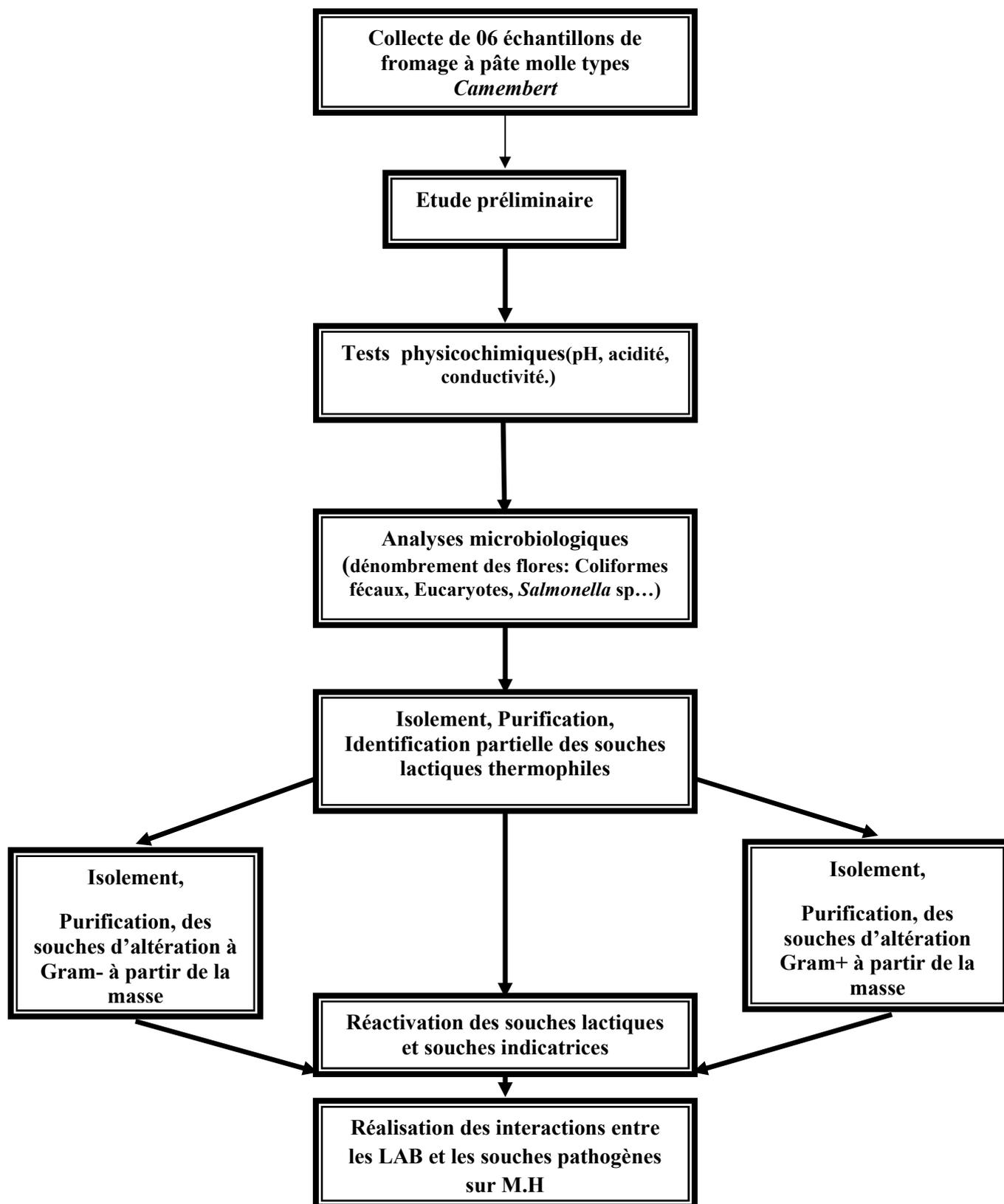


Figure 1: Schéma illustrant les différentes étapes d'analyses suivies dans la partie pratique.

## I.2. Méthodes

### I.2.1. Echantillonnage

Notre étude expérimentale a porté sur 06 échantillons de fromage à pâte molle type *Camembert* (voir annexe I).

**Tableau II** : Echantillonnage

<b>E</b>	<b>Nom commerciale</b>	<b>Date de fabrication</b>	<b>Duré de validité</b>	<b>Poids</b>	<b>Type d'emballage</b>	<b>Date de prélèvement</b>	<b>Défaut visuelle</b>
<b>E1</b>	LE TIGRE DE MIZRANA	05.02.2018	45 jours	120g	Etanche	11.03.2018	Abs
<b>E2</b>	PETIT MILEV	17.01.2018	45 jours	125g	Etanche	14.03.2018	Abs
<b>E3</b>	LE ZACCAR	21.01.2018	45 jours	250g	Etanche / cartonné	14.03.2018	Abs
<b>E4</b>	LION BLANC	23.03.2018	45 jours	160g	Etanche / cartonné	25.03.2018	Abs
<b>E5</b>	SIDI Saada	14.01.2018	60 jours	250g	Etanche / cartonné	27.03.2018	Abs
<b>E6</b>	PRESIDENT	26.02.2018	60 jours	250g	Etanche / cartonné	27.03.2018	Abs

**E:** Echantillon. **Abs:** Absent

### I.2.2. Analyses physico-chimiques

Les analyses physico-chimiques ont été effectuées pour les 06 échantillons de *Camembert*. Il s'agit essentiellement de:

#### I.2.2.1. La détermination du pH

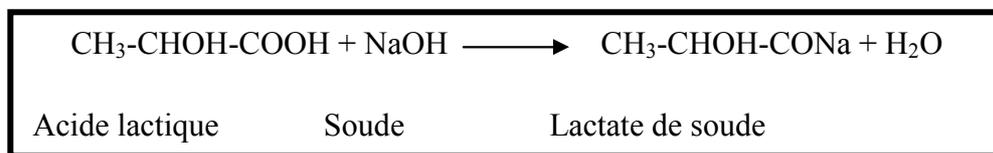
LepH a été déterminé directement, en utilisant un pH-mètre préalablement étalonné par les solutions tampon à pH:4 et pH:7, et ce après avoir plongé l'électrode dans un flacon contenant l'échantillon à analyser *camembert*. La valeur du pH est lue directement sur le pH mètre (AOAC, 2000; Rhiat et *al.*, 2011)

#### I.2.2.2. Détermination de l'acidité en degré Dornic (°D)

Un volume de 10 ml est prélevé pour être titré par une solution NaOH (0,1N) contenu dans une burette et qui est versée goutte à goutte en agitant constamment jusqu'au virage de la couleur vers le rose qui doit persister 30s, en présence de phénophtaléine comme indicateur

coloré. La lecture de volume de solution de NaOH versé se fait sur la burette. L'acidité est exprimée en degré Dornic °D ( $1^{\circ}\text{D}=0,1\text{g d'acide lactique /litre}$ ) (AFNOR, 1980).

### Réaction mise en jeu



### I.2.2.3. Détermination de la conductivité

La conductivité a été déterminé à l'aide d'un conductimètre de marque Tetracon®325, elle consiste à plonger la sonde dans une éprouvette graduée de 100 ml remplie de 50 ml de la suspension de l'échantillon à analyser Camembert, lorsqu'il se stabilise, la lecture de la valeur de la conductivité se fait directement sur l'appareil.

### I.2.3. Analyses microbiologiques

Dans cette étape, nous avons vérifié la qualité microbiologique des échantillons de *Camembert*, pour évaluer le degré de contamination, cela pour recherche et dénombrement de flores: Ci-dessous.

#### I.2.3.1. Préparation de la solution mère et des dilutions décimales

Nous avons introduit aseptiquement 25 g du camembert dans un flacon stérile préalablement taré contenant 225 ml d'eau physiologique stérile, cette suspension constitue alors la solution mère (SM). (Lebres et Hamza, 2002)

Un millilitre de la solution mère a été prélevé aseptiquement à l'aide d'une micropipette avec des embouts stérile et introduit dans un tube à essai contenant 09 ml d'eau physiologique stérile. On obtient ainsi la dilution  $10^{-2}$  et on répète la même procédure jusqu'à la cinquième dilution. (Lebres et Hamza, 2002)

### I.2.3.3. Recherche et dénombrement des germes de contamination

Les microorganismes que nous avons recherchés étaient: la flore totale aérobie mésophile (FTAM), les coliformes totaux, les coliformes fécaux, les streptocoques fécaux, les *Clostridiasulfito-réductrices*(CSR), la flore fongique, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp.

Les principaux milieux sélectifs utilisés pour l'isolement et le dénombrement de ces flores ainsi que les conditions d'incubation (temps et température d'incubation) sont décrit dans le tableau III (composition des milieux: voir annexeII)

**Tableau III:** Principaux germes recherchés, milieux de cultures et conditions d'incubation (Guiraud, 1998 ;Joffin, 1999 ; Lebres et Hamza, 2002).

Germes recherchés	Milieux de cultures	Incubation
<b>FTAM</b>	Gélose Plate Count Agar (PCA)	30°C/72H
<b>Levures et moisissures</b>	Gélose Sabouraud	20°C/5jrs
<b>Coliformes totaux</b>	Gélose glucosée biliée au bilié au cristal violet et au rouge neutre (VRBG).	37°C/72H
<b>Coliformes fécaux</b>	Gélose glucosée biliée au bilié au cristal violet et au rouge neutre (VRBG).	44°C/72H
<b>Streptocoques fécaux</b>	BEA et SB	37°C/24H
<b><i>Staphylococcus aureus</i></b>	Enrichissement dans bouillon GiollitiCantoni(GC).	37°C/24H
	Isolement sur gélose Chapman.	37°C/24H
<b><i>Salmonella</i> sp.</b>	Pré-enrichissement dans l'eau Peptonnée.	37°C/24H
	Enrichissement dans le bouillon de base <i>Salmonella</i> code CM0395.	37°C/24H
	Isolement sur gélose Hektoen.	37°C/24H
<b><i>Clostridiasulfito-réductrices</i></b>	viande foie additionnée d'un Alun de fer et Sulfite de Sodium.	Prétraitement à 80°C /10min 37°C/72H

**I.2.3.3.1. Recherche et dénombrement de la flore totale aérobie mésophile**

Cette flore a été recherchée et dénombrée sur gélose PCA, par ensemencement en masse de 1 ml de chacune des dilutions  $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-5}$ . Les boîtes ont été incubées couvercle en bas à 30°C, trois lectures ont été effectuées à 24, 48 et 72 heures (Lebres et Hamza, 2002)

**I.2.3.3.2. Recherche et dénombrement des levures et moisissures**

A partir des dilutions décimales  $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-5}$ , un volume est porté aseptiquement dans une boîte de Pétri contenant de la gélose Sabouraud. Un volume de 0,1 ml est étalé à l'aide d'un râteau stérile. Les boîtes ainsiensemencées sont incubées pendant 5 jours à 20°C. (Lebres et Hamza, 2002)

**I.2.3.3.3. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux**

La recherche des coliformes a été faite sur gélose VRBG par ensemencement en masse de 1 ml de chacune des dilutions  $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-5}$ . Les boîtes ont été incubées couvercle en bas

Cette opération doit être effectuée en double pour chaque dilution car:

-la première série de boîtes sera incubée à 37°C et sera réservée à la recherche des coliformes totaux.

-la deuxième série de boîtes sera incubée à 44°C et sera réservée à la recherche des coliformes fécaux. (Lebres et Hamza, 2002)

**I.2.3.3.4. Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux**

Les Streptocoques du groupe D ou Streptocoques fécaux sont recherchés et dénombrés en milieu BEA et SB. A partir des dilutions décimales  $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-5}$ , un volume est porté aseptiquement dans une boîte de Pétri contenant de la gélose BEA et SB. Le volume est étalé à l'aide d'un râteau stérile. Les boîtes ainsiensemencées sont incubées pendant 24 H à 37°C.

**I.2.3.3.5. Recherche et dénombrement des *Staphylococcus aureus***

Un enrichissement dans le bouillon Giolitti Cantonii a été effectué. Après 24h d'incubation à 37°C, les tubes positifs (virés au noir) font l'objet d'un isolement sur milieu Chapman. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 48H (Lebres et Hamza, 2002).

#### **I.2.3.3.6. Recherche et dénombrement des *Clostridia* sulfito-réductrices (CSR)**

Un volume 20 ml de la solution mère, est chauffé à 80°C pendant 10min environ (choc thermique pour provoquer la sporulation). Après un refroidissement rapide sous courant d'eau froide, le volume chauffé est stérilement inoculé dans un tube contenant la gélose Viande Foie (VF), préalablement fondue et additionnée des deux additifs : Alun de Fer et Sulfite de Sodium et maintenue en surfusion à 45°C. Les tubes sont incubés à 37°C. La lecture est faite après 24, 48, 72H. (Lebres et Hamza, 2002)

#### **I.2.3.3.7. Recherche et dénombrement de *Salmonella* sp.**

La recherche de *Salmonella* sp. a passé par trois étapes. Un pré-enrichissement dans l'eau Peptonnée suivi d'un enrichissement dans le bouillon de base *Salmonella* code CM0395. Et enfin un isolement sur gélose Hectoén. Pour tous les milieux, l'incubation a été effectuée à 37°C pendant 24H. (Lebres et Hamza, 2002)

### **I.2.4. Dénombrement des flores associées aux fromages**

#### **I.2.4.1. Dénombrement des Lactobacillesp.et Streptocoques thermophiles**

Le dénombrement sélectif des bactéries lactiques thermophiles, associés au fromages a été réalisé par inoculation de volume de 1 ml de la solution mère dans les bouillons MRS et M17; milieux adaptés à la recherche spécifique des Lactobacilles et des Streptocoques thermophiles respectivement (Larpent et *al.*, 1997); puis ensemencement en masse sur géloses MRS et M17. Suivi d'une incubation pendant 24H-72H à 42°C.

Le dénombrement des Lactobacilles (MRS) et Streptocoques thermophiles (M17) a été effectués au moyen d'un compteur des colonies microbiennes. Seules les colonies rondes ou lenticulaires, de couleur blanchâtre ou laiteuse et de petite taille sont comptées. L'expression des résultats, s'est faite en UFC/g.

#### **I.2.4.2. Isolement et purification des souches lactiques thermophiles**

Des colonies de couleur blanchâtre ou laiteuse ont été récupérées sur lesquelles ont été appliqués un test préliminaire comprenant la coloration de Gram. Seules les souches à Gram positif ont été prises en considération puis purifiées par séries d'ensemencements successifs en stries, sur la gélose MRS pour les lactobacilles et la gélose M17 pour les Streptocoques thermophiles, avec une incubation à 42°C pendant 24H. (Larpent et *al.*, 1997 ; Guiraud, 2003)

### **I.2.4.3. Conservation des souches lactiques**

Après purification et réactivation des souches lactiques thermophiles, dans des bouillons correspondants (MRS et M17 en l'occurrence), leurs conservation à été faite dans différents milieux à basses températures:

Conservation de longue durée, sur un milieu approprié (MRS liquide pour les Lactobacilles, tandis que le M17 liquide pour les Streptocoques), additionnée de glycérol à 30%, conservation à -20°C (Gyocheva et *al.*, 1995 ; El Sharoud et *al.*, 2013).

### **I.2.5. Etude des interactions entre des souches pathogènes et les souches lactique isolées**

Les souches lactiques thermophiles les plus performantes pour leur pouvoir acidifiant ont été testées pour leur pouvoir antibactérien suivant la méthode décrite par: (Tadesse et *al.*, 2004; Tabak et *al.*, 2012). Pour réaliser le test d'antagonisme, il faut avoir des pré-cultures des souches lactiques et la pré-culture des souches indicatrices (pathogènes).

#### **I.2.5.1. Préparation des pré-cultures des souches lactiques thermophiles**

Les souches lactiques, isolées à partir des échantillons du *Camembert*, purifiées, ont été conservés à une T° de 4°C, et réactivées avant leur utilisation dans les tests d'inhibition par des transferts sur bouillon MRS pour les *Lactobacillus* et sur bouillon M17 pour les Streptocoques, puis incubées 24 h à 44°C pour les *Lactobacillus* et à 42°C pour les Streptocoques, afin d'obtenir des cellules jeunes avec un rendement maximal en substances inhibitrices.

#### **I.2.5.2. Préparation des pré-cultures des souches indicatrices (pathogènes)**

Chaque souche indicatrice (pathogène) a été réactivée dans son bouillon correspondant, par double culture de 24 h d'intervalle après incubation à 37°C

##### **I.2.5.2.1. Origines des souches indicatrices**

Les souches d'altération, associées à la pâte du fromage, ont été ultérieurement isolées de la pâte des fromages, partiellement identifiées, par des API 20E et API 20NE Bio Mérieux conservées au laboratoire de Microbiologie (banque des souches d'intérêt alimentaire), la traçabilité relative aux conditions de l'isolement, purification, conservation et réactivation de ces souches est illustrées sur le tableau IV

**Tableau IV:** illustrant, conditions, l'isolement et conservation des souches indicatrices

Souches/ Paroi	Milieu/ Isolement	Bouillon/Enric hissement	Milieu/ Conservation
<i>Staphylococcus</i> sp/ G (+)	Chapman	GC	GC +30% glycérol
<i>Staphylococcus aureus</i> / G (+)	Chapman	GC	GC+30% glycérol
<i>Pseudomonas</i> sp/ G (-)	Gélose Citrimidée	BN	BN+30% glycérol
<i>Escherichia coli</i> / G (-)	Gélose nutritive	EP	EP+30% glycérol
<i>Salmonella</i> sp/ G (-)	Gélose Hektoen	BMK	BMK+30% glycérol

GC : Giolitti Cantonii BN : Bouillon Nutritif EP : Eau Peptonnée BMK : bouillon Muller Kaufman

### 1.2.5.3. Exploration des activités antagonistes des souches LAB thermophiles

Le protocole suivie, pour la réalisation des interactions a été inspiré de ceux préconisé par: Tagg et MC Given, 1971; Tagg et *al.*, 1973)

Un volume de 15 ml du milieu M.H (voir composition de ce milieu en Annexe II) a été coulé dans des boîtes de Pétri. Après solidification du milieu, les boîtes ont été inondées par les suspensions des isolats cibles et laissées diffuser dans la gélose M.H à température ambiante pendant 3H. Des disques en papier stérile sont ensuite déposés à la surface de la gélose M.H, puis les disques sont imbibés par un volume de surnageant brute actif de la culture lactique thermophiles. Les boîtes Pétri sont incubées à 37°C pendant 24 H.

L'activité antimicrobienne est mis en évidence, par l'apparition de zones d'inhibition (zone Claire) autour des disques (Labioui et *al.*, 2005; Achemchem et Abrini, 2005).

La lecture s'est faite par la mesure du diamètre des zones d'inhibitions apparaissant autour des disques (Zi), exprimée en mm Une inhibition est considérée positive si le diamètre est supérieur à 2 mm (Allouache et *al.*, 2010). La mesure du diamètre des zones d'inhibition (Zi) est effectuée selon la formule suivante:

$$Zi \text{ en (mm)} = \text{diamètre de la zone d'inhibition obtenue (mm)} - \text{diamètre des disques (6mm)}$$

*Chapitre II :*  
*Résultats et discussion*

## I. Résultats

### I.1. Analyses physicochimiques

Les résultats des analyses physicochimiques, effectués sur les 06 échantillons de fromage type *Camembert* sont représentés dans le tableau V

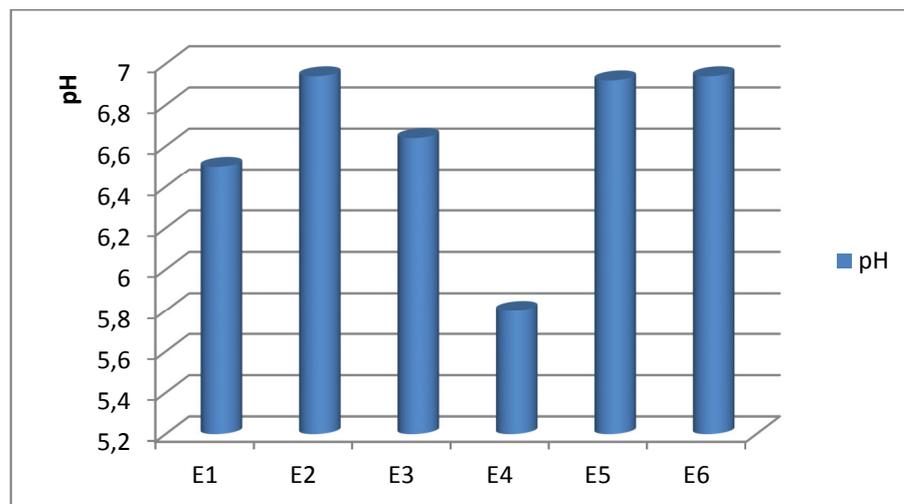
**Tableau V:** Résultats des analyses physicochimiques des échantillons de *Camembert*.

Echantillons	pH (interne)	pH (crouste)	Acidité titrable <sup>°D</sup>	Conductivité ms /cm
E1	6,5	8,5	24	17,78
E2	6,94	8,8	32	18,95
E3	6,64	8,9	40	19,18
E4	5,8	8,2	12	17,87
E5	6,92	8,5	23	18,09
E6	6,94	8,9	25	18,05
<b>moyenne</b>	<b>6,57</b>	<b>8,63</b>	<b>26</b>	<b>18,32</b>

#### I.1.1. pH

Les résultats obtenus montrent que les 06 échantillons analysés du camembert ont un pH légèrement acide, avoisinant de 6,5.

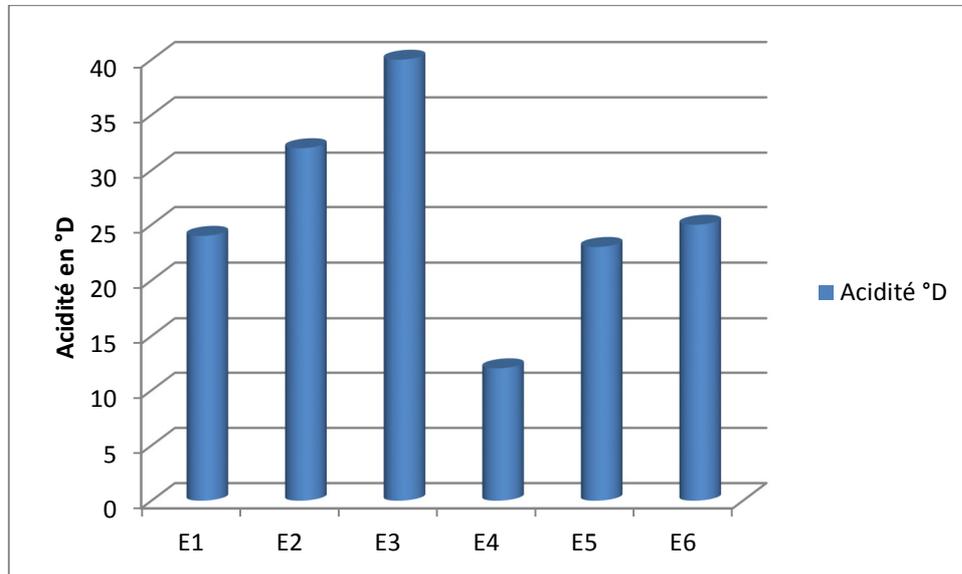
D'après ces résultats, le pH des 06 échantillons est compris entre 5,8 et 6,94 avec une moyenne de l'ordre de:6,62 (voir figure2)



**Figure 2 :** Histogramme représentatif des variations des pH des échantillons analysés.

**I.1.2. Acidité titrable**

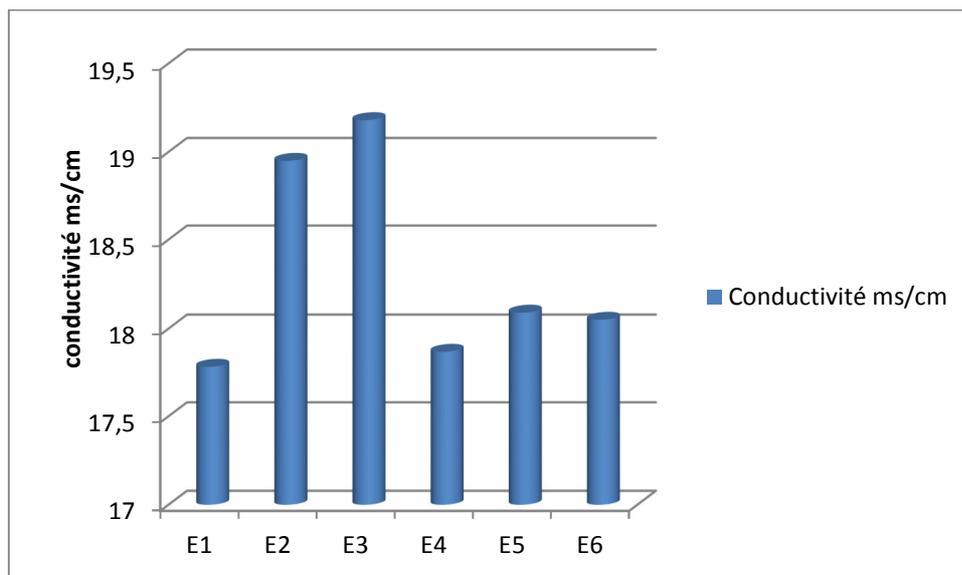
Les 06 échantillons analysés du camembert présentent une acidité titrable cerné entre 12°D et 40°D avec une moyenne de 26°D (voir figure 3).



**Figure 3:** Histogramme représentatif des variations de l’acidité des échantillons analysés.

**I.1.3. Conductivité électrique**

La conductivité des 06 échantillons analysés du camembert est comprise entre: 17,78 ms/cm et 19,18 ms/cm avec une moyenne de 18,32ms/cm (voir figure 4).



**Figure 4:** Histogramme représentatif des variations de la conductivité des échantillons analysés.

## I.2. Analyses microbiologiques

La qualité microbiologique des échantillons de *camembert* a été évaluée quantitativement par le dénombrement des différents groupes microbiens (FTAM, coliformes totaux, coliformes fécaux et streptocoques fécaux) et qualitativement (formation des spores). Les résultats des analyses microbiologiques sont illustrés dans le tableau VI

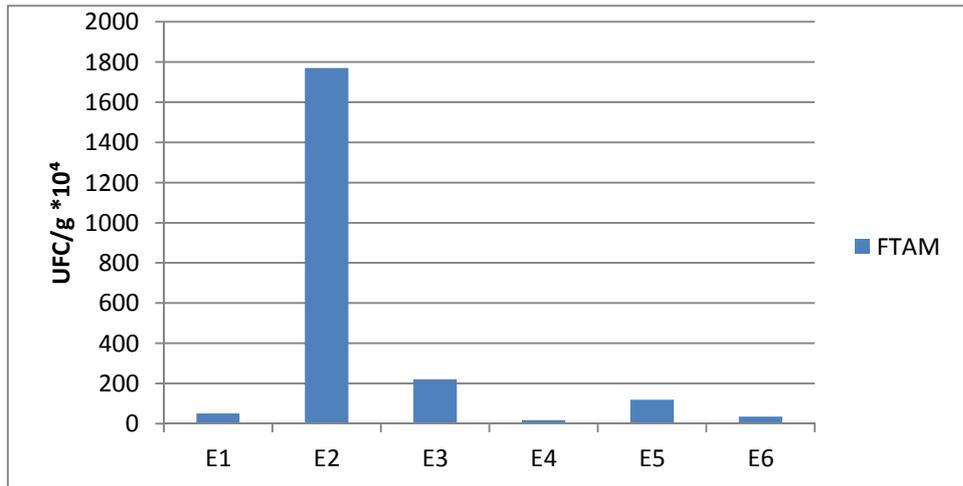
**Tableau VI:** Résultat du contrôle de la qualité microbiologique.

E	FTAM (UFC/g)	CT (UFC/g)	CF (UFC/g)	SF (SB/BEA)	Sal (UFC/g)	S.aureus (UFC/g)	CS R	Flore Eucaryote	
1	5,19x10 <sup>5</sup>	1,81x10 <sup>7</sup>	1,55x10 <sup>7</sup>	1,93 x10 <sup>6</sup>	2,73 x10 <sup>6</sup>	-	7,68x10 <sup>6</sup>	-	3,23x10 <sup>3</sup>
2	1,77x10 <sup>7</sup>	2,20x10 <sup>7</sup>	1,42x10 <sup>6</sup>	4,79 x10 <sup>6</sup>	2,71 x10 <sup>6</sup>	-	1,14x10 <sup>7</sup>	-	1,17x10 <sup>5</sup>
3	2,21x10 <sup>6</sup>	3,71x10 <sup>6</sup>	3,35x10 <sup>5</sup>	2,94 x10 <sup>6</sup>	1,47 x10 <sup>6</sup>	-	2,27x10 <sup>7</sup>	-	8,50x10 <sup>5</sup>
4	1,74x10 <sup>5</sup>	9,75x10 <sup>4</sup>	5,80x10 <sup>4</sup>	2,29 x10 <sup>3</sup>	1,11 x10 <sup>5</sup>	-	40	-	1,38x10 <sup>6</sup>
5	1,19x10 <sup>6</sup>	8,44x10 <sup>6</sup>	5,41x10 <sup>4</sup>	5,55 x10 <sup>4</sup>	3,74 x10 <sup>5</sup>	-	3,86x10 <sup>6</sup>	-	mycilia
6	3,51x10 <sup>5</sup>	10	20	1,19 x10 <sup>4</sup>	8,44 x10 <sup>3</sup>	-	7,31x10 <sup>4</sup>	-	3,97x10 <sup>4</sup>

FTAM : Flore Totale Aérobie Mésophile ; CT : Coliformes Totaux ; CF : Coliformes Fécaux ; SF : Streptocoques Fécaux ; Sal : *Salmonella* ; CSR : *Clostridium* Sulfite Réductrice ; (-) : absence ;(+) : présence.

### I.2.1. Recherche et dénombrement de la flore totale aérobie mésophile FTAM

Le dénombrement de la FTAM a révélé que la plupart des échantillons analysés sont hautement contaminés et que le niveau de contamination est cerné entre 1,74x10<sup>5</sup> et 1,77x10<sup>7</sup> UFC/g avec une moyenne de 2,21x10<sup>7</sup> (Figure 5)

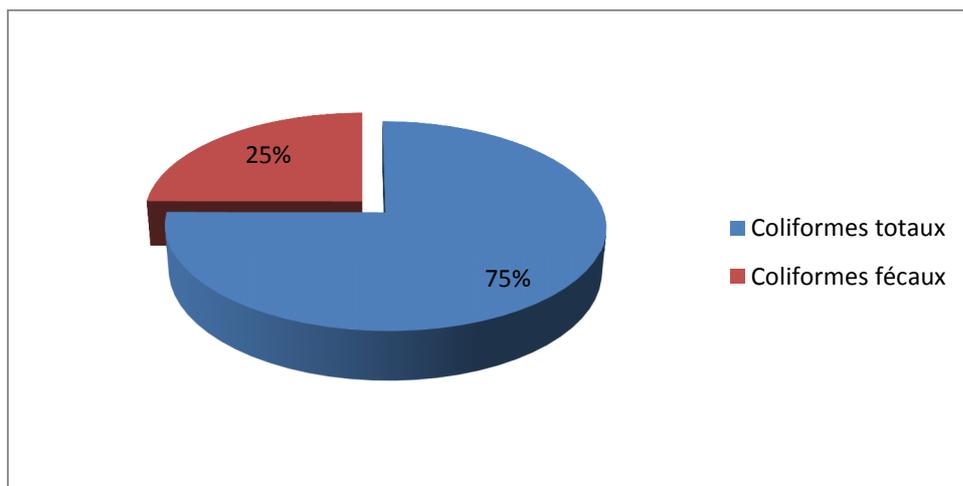


**Figure 5:** Histogramme représentatif des résultats de dénombrement des FTAM. (UFC/g)

**I.2.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux**

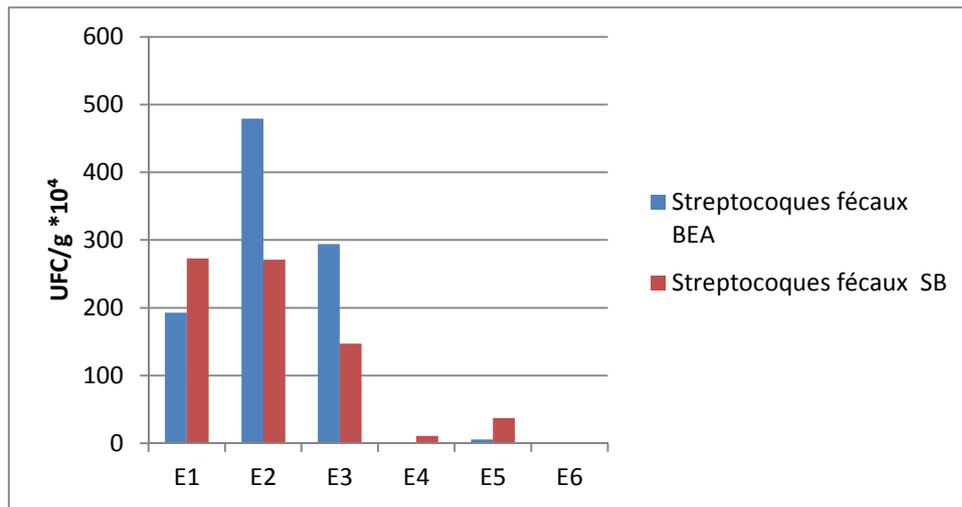
La contamination des échantillons par les coliformes a été détectable ; 75% des échantillons étaient contaminé par les coliformes totaux avec une moyenne de  $8.72 \times 10^6$  UFC/g alors que 25% des échantillons étaient contaminé par les coliformes fécaux avec une moyenne de  $2.89 \times 10^6$  UFC/g.

Les résultats du dénombrement des coliformes totaux et coliformes fécaux sont représentés dans les figures suivantes (Figure 6).



**Figure 6:** Répartition des Coliformes totaux et des Coliformes fécaux présents dans les 06 échantillons du *Camembert*.

**I.2.3. Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux**



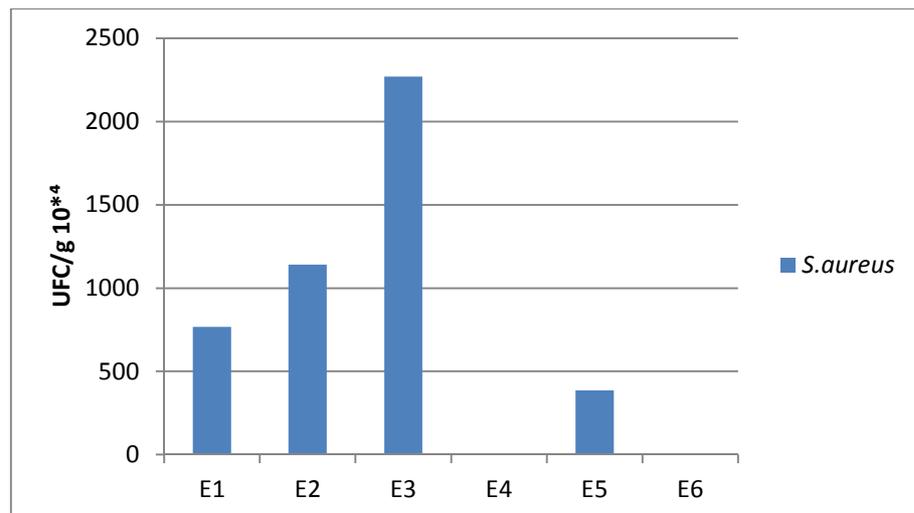
**Figure 7:** Histogramme représentatif des résultats de dénombrement des Streptocoques fécaux

**I.2.4. Recherches et dénombrement de *Salmonella* sp.**

Aucun résultat positif de présence de *Salmonella* sp. n'a été trouvé pour l'ensemble des échantillons analysés.

**I.2.5. Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus***

Les échantillons analysés présentent une nappe de petites colonies de *Staphylococcus aureus* sur le milieu Chapman Stone, avec une pigmentation jaune (voir Figure 8)



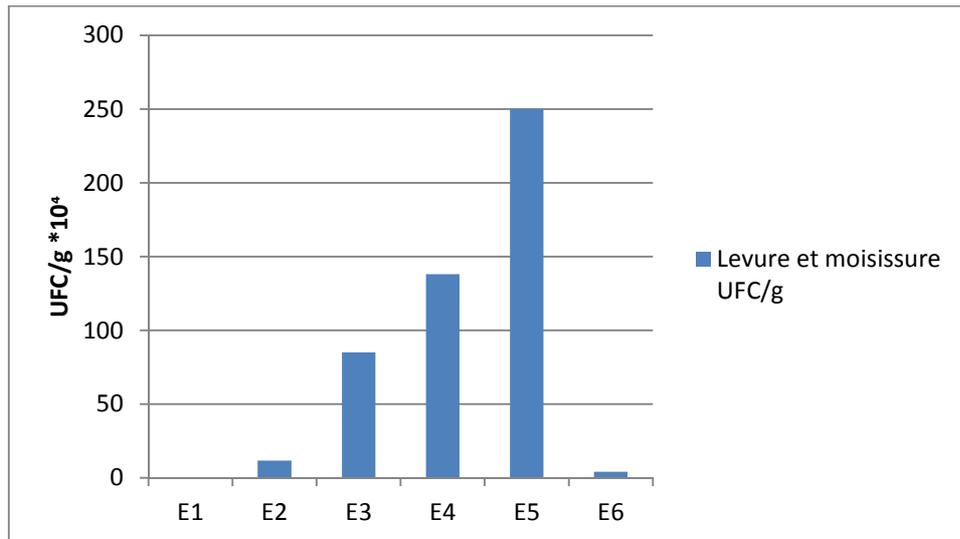
**Figure 8:** Histogramme représentatif des résultats de dénombrement de *S.aureus*.

### I.2.6. Recherche et dénombrement des *Clostridia* Sulfito-réductrices

Nous avons constaté que la totalité des échantillons analysés ne présentent aucun résultat positif de présence de spores.

### I.2.7. Recherche et dénombrement des levures et moisissures

Sur l'ensemble des échantillons, Les résultats obtenus montrent que la flore fongique est importante et non négligeable, elle est de l'ordre de  $4.7 \times 10^5$  UFC/g.



**Figure 9:** Histogramme représentatif des résultats de dénombrement des levures et moisissures.

## I.3. Exploration des charges en flores lactiques thermophiles

Le *camembert* a été choisi comme un produit de terroir faisant objet d'isolement des bactéries lactiques d'intérêt technologique.

### I.3.1. Dénombrement des bactéries lactiques thermophiles

Les résultats du dénombrement des bactéries lactiques thermophiles, précédemment isolées sur milieux MRS et M17, sont illustrés dans le tableau VII.

Le résultat du dénombrement de la microflore lactique, sur milieux MRS pour les lactobacilles et M17 pour les streptocoques thermophiles, a révélé une charge en bactéries lactiques allant de  $6,14 \times 10^3$  à  $8,17 \times 10^6$  UFC /g pour les lactobacilles et de  $2,97 \times 10^6$  à  $1,98 \times 10^7$  UFC/g pour les streptocoques thermophiles.

Tableau VII : Résultats de dénombrement des bactéries lactiques isolées de camembert.

Echantillon	Streptocoques thermophiles	Lactobacilles
E1	$1,42 \times 10^7$	$1,40 \times 10^6$
E2	$1,98 \times 10^7$	$8,17 \times 10^6$
E3	$1,70 \times 10^7$	$5,45 \times 10^6$
E4	$1,77 \times 10^7$	$6,14 \times 10^3$
E5	$5,92 \times 10^6$	$6,81 \times 10^5$
E6	$2,97 \times 10^6$	$7,80 \times 10^4$

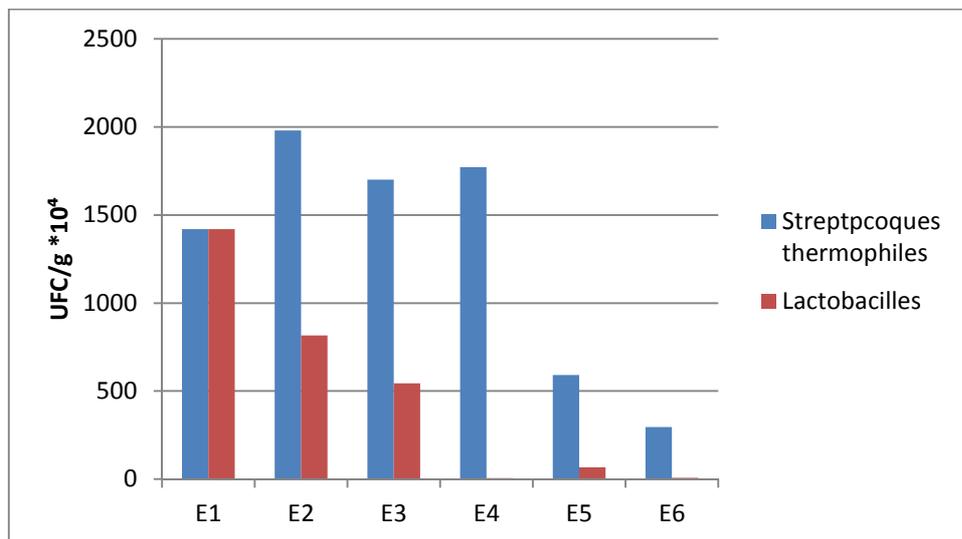
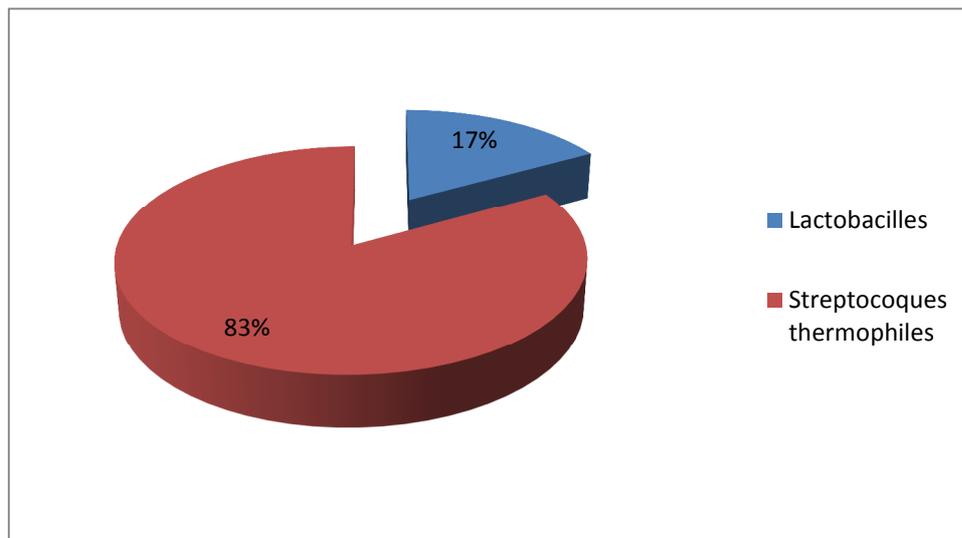


Figure 10: Histogramme représentatif des résultats de dénombrement des Streptocoques thermophiles et des Lactobacilles.

Pour les 06 échantillons du Camembert analysés, il y'a environ 83% des Streptocoques thermophiles, avec une moyenne de  $1.29 \times 10^7$  UFC/g et 17% des Lactobacilles avec une moyenne de  $2.63 \times 10^6$  UFC/g. Les résultats obtenus sont illustrés dans la Figure 11.

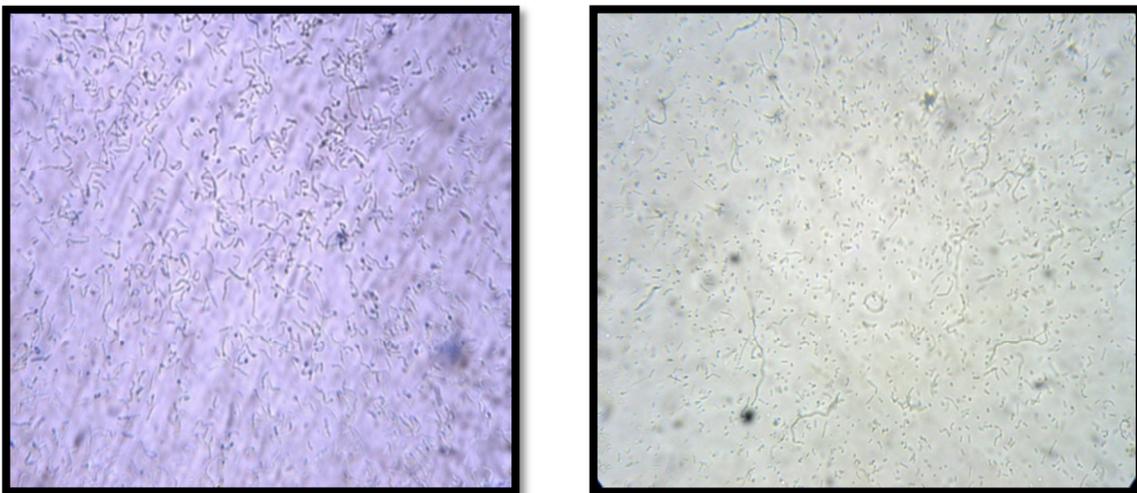


**Figure 11:** Répartition des Lactobacilles et des Streptocoques thermophiles présents dans les 06 échantillons du *Camembert*.

### I.3.2. Examen microscopique

#### I.3.2.1. Observation à l'état frais

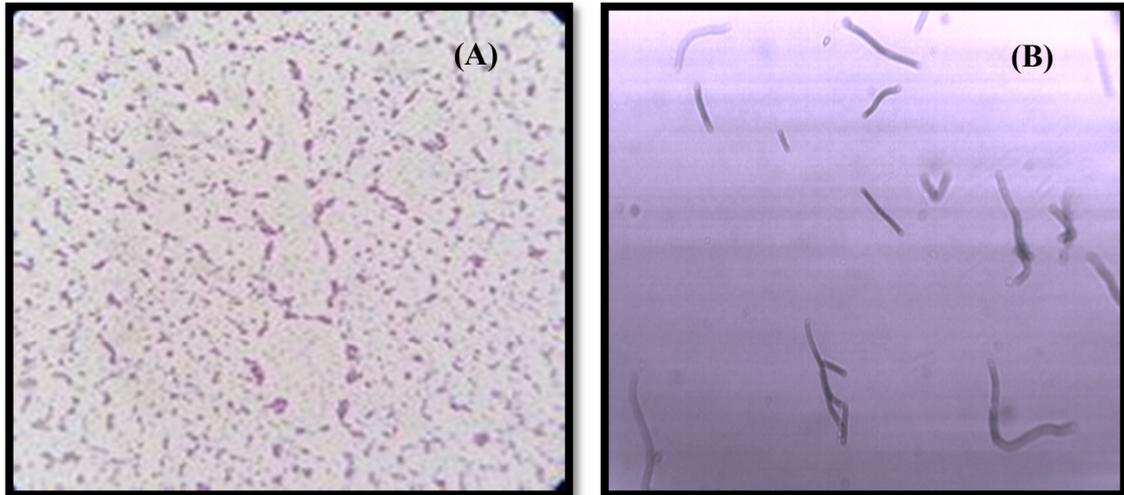
L'observation à l'état frais entre lame et lamelle, a permis de confirmer la viabilité, l'immobilité des bactéries lactiques thermophiles isolées (Figure 12)



**Figure 12:** Aspect microscopique des Streptocoques thermophiles et des lactobacilles à l'état frais (Gx40).

### I.3.2.2. Coloration de Gram

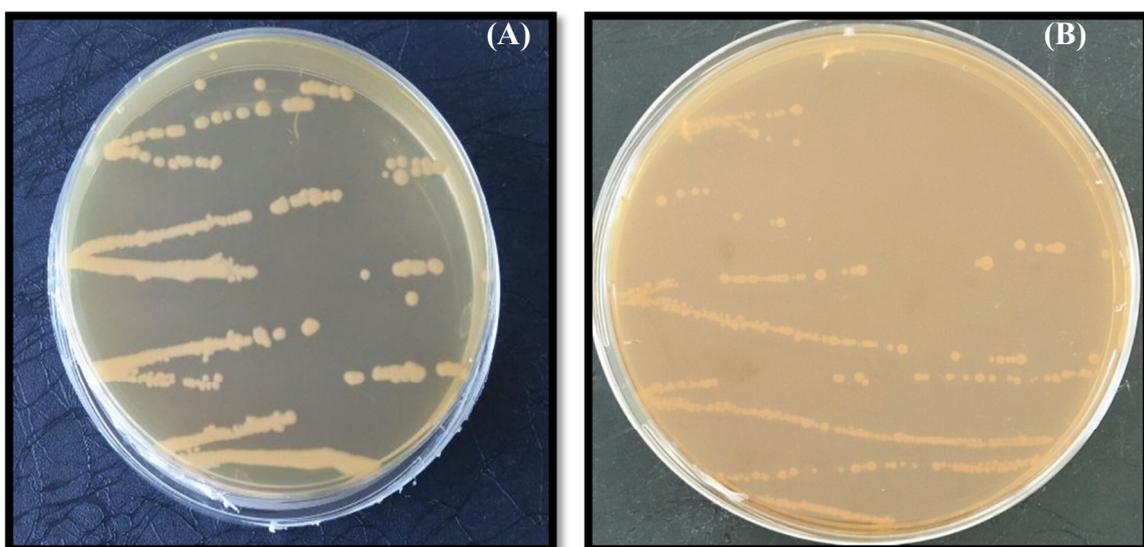
Après coloration de Gram, l'observation microscopique a montré des cellules colorées en violet donc à Gram+ en forme de coque ou de bacille, isolées ou regroupées en paires ou en chaînettes(Figure 13) .



**Figure 13:** Vue microscopique des Streptocoques thermophiles (A)et Lactobacilles (B) après coloration de Gram (Gx40) et (Gx100).

### I.3.3. Purification des souches lactiques thermophiles :

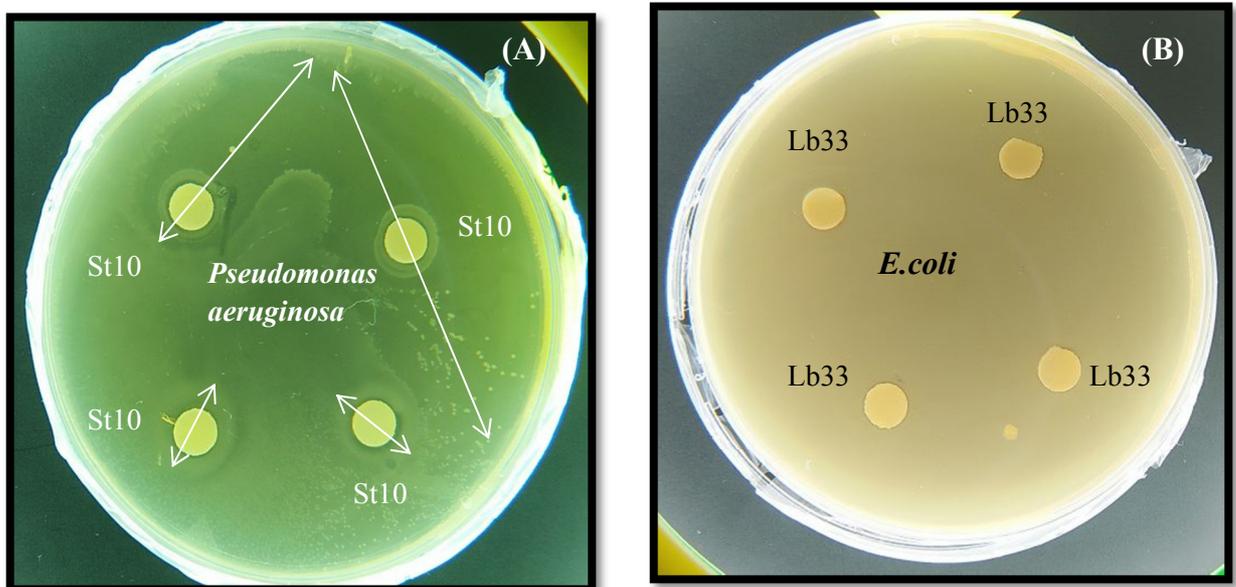
Les Streptocoques thermophiles ont été purifiés par une série de repiquages successifs, par strie sur le milieu gélosé M17. Tandis que, les Lactobacilles ont été purifiés sur le milieu gélosé MRS (Figure 14).



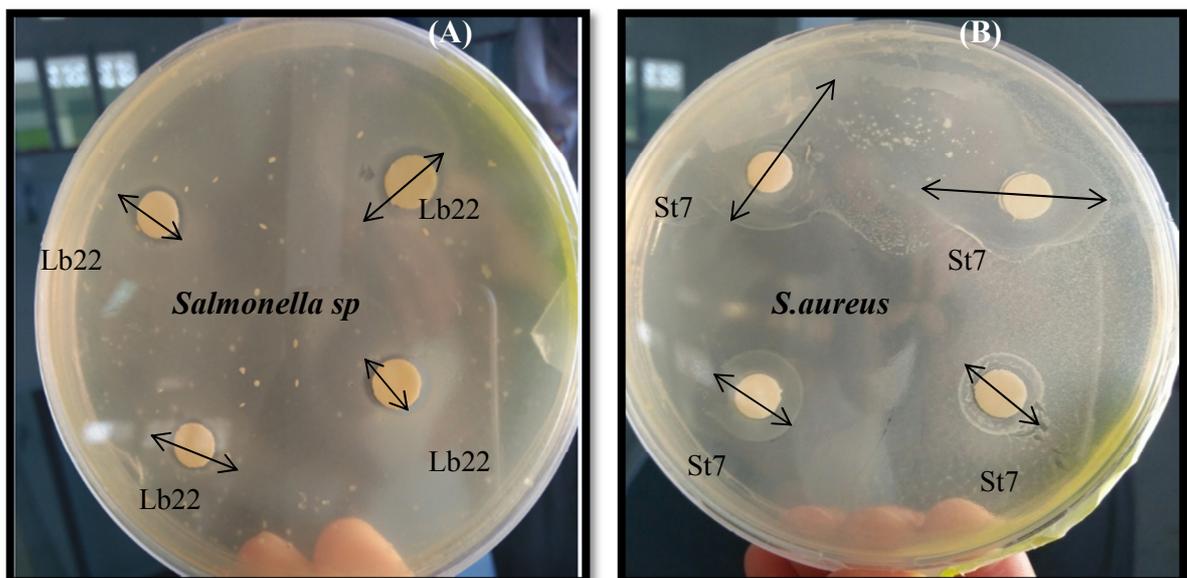
**Figure 14:** Aspect des colonies des bactéries lactiques sur gélose M17 (A) et MRS (B).

#### I.4. Pouvoir antagoniste, in vitro des bactéries lactiques

L'étude des interactions entre les souches lactiques et les souches pathogènes semble être une étape primordiale. Ce type de test va mettre en évidence les caractéristiques que possèdent certaines souches de bactéries lactiques à inhiber d'autres souches pathogènes, une fois mise en contact, les résultats obtenus sont présentés par les figures 15 et 16.



**Figure 15:** Zones d'inhibition entre les Streptocoques thermophiles et *Pseudomonas aeruginosa*(A) et Lactobacilles et *E. coli* (B).



**Figure 16:** Zones d'inhibition entre les Lactobacilles et *Salmonella sp.* (A), les Streptocoques thermophiles et *S. aureus* (B).

**Tableau VIII:** Résultats des interactions entre les souches lactiques thermophiles isolées et les souches indicatrices ( $\emptyset$  des zones d'inhibition en mm).

Souches lactiques	Lb 24	Lb 26	St 23	St 30
<i>Ps*. aeruginosa</i>	09	09	14	**44
Souches lactiques	Lb 22	Lb 31	St 10	St 34
<i>Sal*. typhimirium</i>	06	**31	08	09
Souches lactiques	Lb 23	Lb 33	St 11	St 18
<i>E. coli</i>	-	04	05	05
Souches lactiques	Lb 29	Lb 30	St 7	St 16
<i>Staphylococcus aureus</i>	14	14	20	7
Souches lactiques	Lb 22	Lb 31	St 7	St 16
<i>S*. sp</i>	08	14	09	07

Lb : Lactobacille, St : Streptocoque, - : Réaction négatif.

## II. Discussion

### II.1. Testes physicochimiques

Pour l'ensemble des échantillons des fromages type camembert, la moyenne des valeurs des pH relatifs à la croûte était de : 8,63, avec des valeurs maximale (8,90) et Minimale (8,20).

Pour les pH de la masse interne la moyenne était de 6,57 avec des valeurs Maximale (6,94) et Minimale (5,80).

Pour la totalité des échantillons, la moyenne d'acidité titrable était de 26 °D, avec un Maximale 40 °D et un Minimale de 12 °D.

En outre, l'acidité, en degré Dornic, a été estimée par neutralisation, à l'aide de la soude N/9, de 10 ml de solution mère auquel est ajouté un indicateur de pH (solution alcoolique de 01% de phénolphthaléine, (1°D= 0,1g /L d'acide lactique) et par des mesures des pH, à l'aide d'un pH mètre (Chamba et Prost, 1989 ; Thomas et Chamba, 2000 ; Meribai et *al.*, 2015 ; 2016).

Le degré Dornic(°D) est une expression, de l'acidité développée dans le lait, par transformation du lactose (principal sucre du lait) en acide lactique, un degré Dornic (°D) correspond à 0,1d'acide lactique dans un litre de lait (Chamba et Prost,1989).

Ouali, 2003 a noté, lors de l'étude menée sur la qualité du fromage à pâte molle, type Camembert fabriqué à la laiterie de Draa Ben Khedda Algérie, qu'il y a une désacidification (alcalinisation) progressive de la croûte, ce qui permet, d'atteindre après 20 jours, des valeurs de pH équivalentes à 6,64 et 7,10, pour des fromages fabriqué à base de différents laits.M

De plus, le rest pH e acide au niveau de la patte interne (pour les deux types de fromage), Ceci dénote, selon l'auteur, l'action enzymatique accrue, de la flore superficielle sur l'élévation du pH. Malgré cette désacidification noté par l'auteur, ces résultats étaient nettement inférieurs à nos autres.

A cet égard, Legra et et Brule (1988), lors d'une étude menée sur un fromage affiné durant20 jours, ont obtenu des valeurs des pH de 7,0 ; 6,5 et 4,8, respectivement pour la croûte, la sous-croûte et la partie centrale du fromage. Nos résultats sont nettement levés a ces derniers.

En outre, nos résultats des analyses chimiques (pH et acidité titrable),étaient en parfaite concordance avec ceux notés par : Dib et *al.*,( 2008)ayant enregistré une faible acidité des échantillons de fromages (0,18 à 0,26 %), une teneur variable en eau (54 à 70%) ; alors

que les matières protéiques varient entre : 19 à 24% ; les matières grasses de 12 à 18%, sauf pour le fromage type double crème ( $3,26 \pm 1,78$  %) et un pH varie entre 5,61 et 6,45.

En outre nos résultats sont très proches de ceux enregistrés par Mei *et al.* (2015), ayant noté des valeurs des pH cernés entre 5,35 et 5,91

D'autres part, Hamama *et al.*, (1995), avaient noté, pour un fromager à pâte molle, des valeurs nettement inférieures à nos résultats.

De même, Louhichi, (2008), avait noté des valeurs des pH interne (de pâte,) pour un fromage type camembert, cernées entre (5,20 et 6,48), très proches de celles enregistrées pour nos échantillons.

Nos résultats sont supérieurs à ceux enregistrés par Guizani *et al.*, (2002), ayant noté une rapide élévation du pH (7) de la croûte du fromage. Tandis que, le différentiel entre les pH superficiel (4,6) et celui de la masse centrale a été maintenu constant, durant toute la durée de maturation. D'autre part, l'analyse rhéologique, a démontré le ramollissement du camembert au cours de la maturation en raison de la protéolyse extensive.

De même, nos résultats sont supérieurs, et contradictoire avec ceux de Chemache, (2011) ayant montré une diminution significative ( $P < 0,05$ ) du pH jusqu'à 5,67 pour un fromage à pâte molle «*Metidja*» et 5,97 pour un fromage type camembert «*Ladhidh*». Cette chute des pH a été attribuée à un probable pouvoir tampon des sels de fonte, ayant ajusté le pH à la bonne valeur (Gupta *et al.*, 1984 ; Chambre *et al.*, 1997).

## II.2. Tests microbiologiques

Lors des analyses, l'aspect visuel, pour l'ensemble des échantillons, était d'allure normale. Nous avons noté l'absence de toute consistance, déformation, gonflement, taches ou odeur suspecte des échantillons. Les examens microbiologiques ont été validés le jour même. Pour les recherches et dénombrements des flores microbiennes, nous avons procédé à la substitution de certains milieux par d'autres et/ou nous avons aussi apporté de légères modifications inspirées, pour certains protocoles.

Lors des préparations des solutions mères, des dilutions, la croûte superficielle de chaque échantillon a été éliminée de l'étude.

De même, les boîtes Pétri contaminées après incubation sont systématiquement éliminées de l'étude.

Pour l'ensemble des échantillons :

Les résultats des analyses microbiologiques ont été comparés aux normes nationales : l'arrêté interministériel du 25 Ramadhan 1418 correspond au 24 janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 relatif aux spécifications

microbiologiques de certaines denrées alimentaires (JO 35/ 1998); (Coliformes  $10^2$ , Coliformes fécaux 10, *Staphylococcus aureus*  $10^2$ , *Clostridium sulfito-réducteur* à 46°C 1, absence de *Salmonella* et *Listeria monocytogenes* et celle de L'AFNOR (Guiraud et Rosec, 2004).

Pour l'ensemble des échantillons, nous avons enregistré, les valeurs moyennes pour les flores suivantes : FTAM :  $2.2 \times 10^7$  UFC/g, Coliformes fécaux :  $2.9 \times 10^6$  UFC/g, Streptocoques fécaux :  $1.6 \times 10^6$  UFC/g, *Staphylococcus aureus* :  $7.6 \times 10^6$  UFC/g, Levures et moisissures :  $4.7 \times 10^5$  UFC/g. Cependant nous avons enregistré l'absence de spores microbiennes.

Pour l'ensemble de nos échantillons, les charges élevées en microorganismes indicateurs de pollution (Coliformes totaux, Coliformes fécaux, Streptocoques fécaux) ont été enregistré. Paradoxalement, nous avons noté l'absence des Bacilles sporogènes, indicateurs de contaminations anciennes.

Benloucif et Oulmi, (2017) ont noté ; lors de l'étude même sur le fromage camembert produit par le complexe «Numidia » (Est d'Algérie) : un fromage à pâte molle, répandant aux normes microbiologiques nationales ainsi que la matière première utilisé : ce qui contrevient nos résultats.

En outre, contrairement, à nos résultats, Saoudi (2012), dans une étude sur un fromage à pâte molle, collecté à l'Est Algérien (*Bouhazza*) : l'étude menée sur 06 échantillons, a montré l'absence des coliformes totaux et fécaux et des espèces pathogènes (*Salmonella* sp, *Listeria monocytogenes* et *E.coli*).

D'autre part, Magriet *al.*, (2016) : avaient noté, une bonne qualité microbiologique des fromages à pâte molle fabriqué par Laiterie Fromagerie Boudouaou-Algérie. A ce titre Bahraoui, (2001), dans une étude microbiologique et physico-chimique du fromage fondu pasteurisé, fabriqué par le même complexe laitier, avait noté un fromage exempt des flores d'altération ce qui contrevient nos résultats. De l'avis de même auteur, les germes retrouvés sur le fromage (moisissures, levures, coliformes totaux) peuvent influencer sur la qualité du produit, en causant certaines altérations.

De plus, Nos résultats sont contradictoire a ceux enregistrés par Chemache, (2011), ayant noté une absence totale des coliformes (totaux et fécaux), des Staphylocoques et les spores anaérobie, lors de leur étude de qualité, de deux spécialités fromagères fabriquées et commercialisées en Algérie.

Meyrand et *al.*, (1998): Lors d'une étude menée sur un fromage à pâte molle fabriqué a base du lait de cherre additionnée d'un inoculum de *Staphylococcus aureus* : L'étude a

montré la présence des staphylococcus durant les différentes étapes y compris pendant le salage et après 41 jours de maturation.

De même, l'étude avait enregistré, à l'état de trace la présence de la toxine staphylococcique.

En outre Benotmane, (2017), dans une étude, menée sur un fromage type camembert, fabriqué et commercialisé en Algérie, avait noté la présence, à des taux, relativement élevé, des coliformes totaux et fécaux contrairement à notre résultat, l'auteur a enregistré l'absence des espèces pathogènes et des endospores.

Une étude réalisée par Hamama, (1989) : a montré la présence des Salmonelles dans un fromage frais marocain, fabriqué à la ferme, cette détection était expliquée par les conditions hygiéniques dans lesquelles la préparation du fromage est réalisée.

D'autres part, Dib et *al.*,(2008): lors d'une étude menée dans 37 industries fromagères, dans diverses régions du Liban. Lors d'analyse d'un effectif de 69 échantillons de fromages,après analyse physico-chimiques (pH, acidité, MG, matière sèche) et microbiologiques. Les résultats ont révélé la présence des coliformes fécaux, *Listeria* sp. et *Salmonella* sp.

Ordenez et *al.*, (1980) dans une étude sur un fromage Espagnol «Roncal» :les résultats ont montré que les flores eucaryotes (levures et moisissures), restent stables au cours de la maturation alors les coliformes décroissent progressivement jusqu'à leur disparition.

Lassart et *al.*, (2012): ont développé une techniques moléculaire (PCR en temps réel pour l'estimation de la flore Eucaryote présente sur la croute du camembert après 31 jours de maturation : cette technique, après optimisation, a montré une prédominance des espèces eucaryotes : *Penicillium camemberti* et *Geotrichum candidum* suivie par des levures *Debaromyces hansenii* et *Kleyveromyces lactis*.

D'après Lessard, (2014) et Lessard et *al.*, (2012) : une méthode de quantification par PCR en temps réel(qPCR), a permis de suivre une population mixte, contenant les mycètes les plus communs (*Penicillium camemberti*, *Geotrichum candidum*, *Db hansenii* et *Kl lactis*). De plus, *P. camembertiet G. candidum* dominant l'écosystème et *Kl. lactis* demeure peu abondant. Lorsque *D. hansenii* est présent, il inhibe la croissance de *Kl. lactis* en plus de réduire celle des autres mycètes. Ce qui montre que les méthodes traditionnelles de dénombrement sur milieu gélosé utilisés dans nos travaux sont imprécises.

Des études antérieures de Baroiller et Schmidt, (1989) : sur la flore levure du fromage de type Camembert, ont montré que seuls 05 genres et espèces (*Kl marxianus* var. *lectis*, *Kl. Marxianus* var. *marxianus*, *Db hansenii*, *Saccharomyces cerevisiae* et *Zygosaccharomyces rouxit*), et pour certaines leurs formes imparfaites, étaient prédominants. Les résultats obtenus

ont montré que *Kl. marxianus* var. *lactis* et sa forme anascosporogène *Candida sphaerica* étaient prédominantes à tous les stades de la fabrication.

### II.3. Isolement, purification, caractérisation et identification des souches thermophiles

Divers milieux de culture, sont recommandés, pour l'isolement et le dénombrement sélectif des bactéries lactiques thermophiles dans les laits crus, produits laitiers fermentés et des aliments à base du lait (Sharpe et Fryer, 1965).

Pour l'isolement de nos souches lactiques thermophiles, à partir des fromages type camembert, nous avons exploité l'effet de deux agents sélectifs : la température optimale et le milieu de culture sélectif doté d'un agent sélectif :

Le  $\beta$  glycérophosphate pour d'isolement des *Streptococcus thermophilus* sur de milieu M17 (Tarzaghi et Sandine, 1975) et le tween 80 ainsi que son pH acide (0,5, 2), dans le cas d'isolement des *Lactobacillus Sp* sur MRS (De Man et al., 1960).

Les températures optimales relatives aux espèces lactiques dénombrées étaient : 42 °C pour les espèces : *Streptococcus thermophilus* et 44 °C pour les espèces *Lactobacillus sp*.

Aucun milieu bactériologique, ne permettra la récupération et/ou le dénombrement, de tous les genres lactiques (voir toutes les espèces) lactiques, à partir des laits et/ ou des aliments à base du lait (Davidson et Cronin, 1973).

Lorsque les estimations, des bactéries lactiques sont nécessaires, dans les aliments, il y'avait tendance à l'usage des milieux sélectifs, ou rendus sélectifs pour les genres lactiques (Rogosa, et al., 1951; Keddie, 1951; De Man et al, 1960; Tarzaghi et Sandine, 1975).

Pour l'isolement sélectif des espèces *Streptocoques thermophilus*, le milieu M17 est le plus recommandé (Tarzaghi et Sandine 1975), la température requise, pour l'isolement sélectif de ces espèces est de 42 °C.

Le choix de la température d'incubation (43 °C), pour les isolats *Streptococcus thermophilus*, nous semble judicieux, puisque c'est la température optimale de croissance, relative à cette espèce, lorsque cette dernière est étudiée en culture pure.

En outre, plusieurs auteurs, avaient utilisés ce point de température (42 °C) pour l'isolement et/ou incubation des souches *Streptococcus thermophilus* : (Nunez et al., 1996 ; Degeest et al., 2002 ; Aslim et Beyatli, 2004 ; Lorenzen et al., 2003 ; Grade et al., 2004 ; Ayhan et al., 2005).

En outre, Zisu et Shah (2003), lors d'une étude sur l'effet de la température, du pH et de la supplémentation en protéines sur la production des exopolysaccharides (E.P.S) par l'espèce *Streptococcus thermophilus* 1275 : Les différentes combinaisons entre ces paramètres avaient montré que, les plus grandes quantités des (E.P.S) ont été produits à 37 °C

et à 40 °C et à pH 4,08. En revanche la température élevée de 45 °C avait diminué sensiblement la production de ces (E.P.S).

Selon Tabasco et *al.* (2007) : Une température de 45 °C pour l'isolement et l'incubation des *Streptococcus thermophilus* a été recommandée.

Cependant ; certains auteurs (Degeest et *al.*, 2002 ; Tabasco et *al.*, 2007) : ont conclu que les souches *Streptococcus thermophilus*, en culture mixte exigent une température optimale située entre 43 °C et 46 °C.

D'autres part, Germond et *al.*, (1995) : avait noté que les souches : *Streptococcus thermophilus* «CNCM-I» produit deux bactériocines, *Thermophilin* 1 et 2 où la température optimale requise pour leur production, en culture pure, a été situé à l'intervalle de 37 °C- 48 °C.

Nous avons enregistré, lors des dénombrements des souches lactiques thermophiles, des retards de croissance des souches, *Streptococcus thermophilus* incubées sur le M17 à 43 °C, ainsi que les *Lactobacillus* Sp sur MRS. L'émergence des colonies, n'apparaît qu'après 72H et peut aller jusqu'au-delà de 72 H. A ce titre, nos observations semble en parfaite concordance avec celles enregistrées par plusieurs auteurs, ayant travaillé sur des souches lactiques thermophiles (Giraffa et *al.*, 1987 ; 2001 ; Guarault et *al.*, 2000 ; 2001 ; Le tort et *al.*, 2002 ; Courtin et *al.*, 2002 ; Courtin et Rul, 2004 ; Aslam et Qazi, 2010).

De même, ces retards de croissance, enregistrés sur les milieux : M17, MRS sont probablement dus, à une phase de latence, plus ou moins prolongée, permettant aux espèces bactériennes, nouvellement cultivée une adaptation (reconnaissance du milieu et des nutriments) puis une initiation des transports et des opérations ds métabolisme de ces derniers.

De vuyst et *al.*, (1998) avaient observé des retards de croissance, aux cours de l'isolement des souches *Streptococcus thermophilus*, où ils ont noté que, cette espèce bactérienne requise pour une croissance optimale sur le lait ou sur un produit laitier, une source exogène d'azote.

Nos observations, relative aux retards des croissances des isolats lactiques, semblent en parfaite concordance avec les remarques notées par : Le tort et *al.*, (2002), quant à la croissance de l'espèce *Streptococcus thermophilus*, qui passe selon le même auteur, par deux (2) phases exponentielles de croissance séparées par une phase non exponentielle, l'auteur note que durant la seconde phase de croissance l'utilisation des caséines (ou protéines du lait, comme source d'acides aminés) engendrés une diminution de taux de croissance de l'espèce bactérienne, ceci, se traduit par des retards de croissance.

Guarault et *al.*, (2000; 2001) : ont noté que, les acides aminés à chaînes branchées : (Leucine, Isoleucine et la Valine) et les bases puriques assimilables par l'espèce *Streptococcus thermophilus*, pour une croissance optimale, sont insuffisamment couverts dans le lait.

D'autres part ; Courtin et *al.*, (2002) ont noté que, ces retards de croissances sont abolis lorsque l'espèce est ensemencée en culture mixte avec l'espèce lactique thermophile : *Lactobacillus Sp.*

Chaves et *al.*, (2003) : avaient noté, les mêmes observations sur des souches *Streptococcus thermophilus* mutantes *Streptococcus thermophilus* et ont conclu que ces souches mutantes sont incapables de croître sur un milieu comme le lait, du fait que, ces dernières, sont dépourvu d'enzymes pour dégrader les protéines du lait ; par contre , ils sont capable de croitre rapidement sur un milieu riche comme le M 17.

Plusieurs auteurs, avaient utilisé cette température (42 °C), proche du point d'optimum pour l'espèce (Lorenzen et *al.*, 2003; Aslim et *al.*, 2004; Grade et *al.*, 2004; Ayhan et *al.*, 2005).

En outre, Jordano et *al.*, (1992): Dans une étude, avaient comparé les dénombrements des espèces *Streptococcus thermophilus*, à partir des laits et produits laitiers fermentés, sur trois milieux M17agar : Oxoid, Merck et le dernier préparé au laboratoire :

Le nombre des UFC le plus élevée a été obtenu sur le M17agar- Oxoid. Alors que aucune différence significative n'as été enregistré entre les deux milieux Oxoid et Merck.

En outre, pour l'isolement sélectif, des espèces thermophiles: *Lactobacillus thermophilus*, Ashraf et Smith, (2015), avaient utilisé, des milieux MRS: De Man et *al.*, (1960), contenant du fructose (M.R.S.F), M.R.S agar pH: 05.2 (MRS pH:05.2), aussi le reinforced clostridial prussian blue agar avec un pH: 05.0 (R.C.P.B.A 05.0) ou le reinforced clostridial agar avec un pH: 05.3 (R.C.A : pH: 5.3) aussi recommandés par les auteurs, surtout, lorsque, l'isolement sélectif ou l'énumération des espèces *Lactobacillus; Lb.delbrueckii subsp.bulgaricus*, à partir des laits et produits laitiers, est réalisée après incubation à 45 °C pendant 72 H (Ashraf et Smith, 2015).

Selon Ashraf et Shah, (2011), l'isolement sélectif et/ou énumération des espèces *Lb. acidophilus*, à partir d'un produit laitier, ou d'une culture mixte, doit être, réalisé sur le MRS agar additionné de : 5- bromo -4 - chloro -3 - indolyl -  $\beta$ -D-glucopyranoside (X-Glu) ou le M.R.S; contenant du maltose (M.R.S.M) et incubation à une atmosphère contenant 20% du CO<sub>2</sub>.

Alors que, les espèces *Lb. acidophilus*, *Bifidobacterium* spp, *Lb. casei* et *Bifidobacterium* sp, ont été énumérées sur le MRS agar, additionné d'acide nalidixique, paromomycine, neomycine sulphate et chlorure de lithium (MRS-NPNL) incubées sous l'anaérobiose et à 37°C pour 72 H (Ashraf et shah, 2011 ; Ashraf and Smith, 2015).

Van de Casteel *et al.*, (2006), avaient, réalisé une série des milieux de culture testés, pour dénombrements et isolements sélectifs des B.L, à partir de laits et produits laitiers :

- M17 supplémenté avec du lactose pour les dénombrements de *Streptococcus thermophilus* sous les conditions aérobies à 45 °C.

- MRS 0 pH : 5.2 et RCA 05.3, ont été utilisés, pour les espèces *Lb bulgaricus*.

Alors que, la gélose nutritive (G.N) supplémentée de salicine et le milieu MRS additionné de clindamycine, ont été pour les espèces *Lb. acidophilus*.

Les différents tests, ont montré que le milieu M17 et le M.R.S : 05.2, étaient les plus adaptés pour les espèces *Streptococcus thermophilus* et *Lb. bulgaricus*. Alors que le MRS additionné de clindamycine était le plus adapté pour les espèces *Lb. acidophilus*.

Pratiquement, il n'y a pas, une technique standard, pour le dénombrement des bactéries lactiques. Cependant, des milieux de culture sélectifs, M.R.S: (De Man *et al.*, 1960), d'autres rendu sélectifs par Tween 80 (1.08ml/ L); et M17: (Tarzaghi et Sandine, 1975), ont été rendu sélectifs par ajout du glycerophosphate de sodium a un taux de 19g/L, les plus recommandés, permettant la croissance sélective des espèces lactiques starters, du yaourt, assurant l'inhibition des autres microorganismes, ont été élaborés (Karimi *et al.*, 2011).

En outre, Moreno *et al.*, (2005) : lors d'estimation des bactéries lactiques, viables, par deux méthodes différentes : énumération sur des milieux de culture sélectifs et comptage des bactéries par microscopie à fluorescence ; ont montré que : les nombres des bactéries/gramme de lait fermenté conservé, décroît après la date limite d'expiration du produit.

Pour l'ensemble des produits laitiers fermentés, les nombres des bactéries lactiques était proche de  $10^6$  ufc/ml, les chiffres des bactéries estimées sur le milieu sélectifs étaient inférieurs aux chiffres obtenus par la deuxième méthode, cette dernière est inadéquate pour le dénombrement des probiotiques.

Contrairement aux autres espèces lactiques, l'espèce *Streptococcus thermophilus*, responsable d'acidification du yaourt, est seule uréase positive, selon Zotta *et al.*, (2008), cette enzyme convertit l'urée présente dans le lait (à des proportions de 0,25% g/l) en CO<sub>2</sub> et NH<sub>4</sub>, ce qui influe sur l'abaissement de pH (Mora *et al.*, 2004; 2005).

Selon Spinnler et Corrieu, (1989), le taux d'acidification du lait, semble espèce-dépendant. Néanmoins; ce caractère est influencé, par l'activité uréasique relative à l'espèce précitée et l'activité urolytique lors du chauffage du lait.

En outre, le rôle de l'uréase chez l'espèce *Streptococcus thermophilus* a un double sens ; par l'usage d'un inhibiteur de l'uréase, le fluorofamide, des travaux ont élucidé ce double rôle : D'une part, l'ammoniac (NH<sub>4</sub>), produit à partir de l'urée tend à alcaliniser le pH, ont remarqué que l'effet est important, lorsque la concentration de lactate est élevée. La suppression de métabolisme de l'urée, par l'usage de : fluorofamide, diminue le temps nécessaire d'acidification, et les nombres UFC/ml des Streptocoques lactiques (Pernoud et al., 2004).

Les fromages à pâte molle, type camembert sont considérés comme des niches écologiques de choix, pour les bactéries lactiques ayant des potentialités technologiques : (Mei et al., 2014 ; Terzic-Vidojevic et al., 2014 ; Al-kotami et al., 2015 ; Centi et al., 2017 ; Dahou et al., 2017 ; Sofu, 2017).

Les espèces *Streptococcus thermophilus* dénombré sur le milieu M17, en UFC/g (83%), dominant les espèces *Lactobacillus* sp (17%) : Ceci est en relation avec les caractères biochimiques et microbiologiques des deux espèces lactiques :

L'espèce *Streptococcus thermophilus* ayant une température optimale thermophile, ayant le statut GRAS. (Delorme, 2008). *Streptococcus thermophilus* est l'une des espèces lactiques, thermophiles, homofermentaires, les plus utilisées en industrie laitière (El sharoud et al, 2013), la seconde après l'espèce *Lactococcus lactis* (Hols et al., 2005). C'est la seule espèce lactique dotée d'uréase (Mora et al., 2004, 2005 ; Zotta et al., 2008), assurant une acidification rapide, par conversion du lactose en lactate. Responsable de la production d'exopolysaccharides (Wu et al., 2014; Mostefaoui et al., 2015), de la synthèse de vitamines dont l'acide folique (Iyer et al., 2010 ; 2010) et de la production de composés aromatiques, dont l'acétaldéhyde (Chaves et al., 2003 ; Bennama et al., 2011 ; 2012).

Serhan, (2008), dans une étude de fromage *Darfiyeh*, une variété traditionnelle, fabriquée à partir de lait de chèvre cru. Les analyses microbiologiques ont mis en évidence (Log cfu.g<sup>-1</sup> fromage) des lactobacilles mésophiles (7,1-10,4), des bactéries lactiques (BL) thermophiles cocciformes (6,6-8,4) et des lactobacilles thermophiles (5,5-7,2). Des analyses menées par PCR spécifiques de l'espèce bactérienne ont confirmé la présence of *Streptococcus thermophilus*, *E. faecium*, *E. durans*, *Lc. Lactis* subsp. *Lactis* et *Lc. Lactis* subsp. *Cremoris*.

Dahou, (2017) : dans une étude de l'évolution de la flore microbienne indigène d'un fromage industriel à pâte molle type camembert, a montré que les bactéries lactiques les plus répandues et les plus souvent dominantes en début d'affinage sont celles de l'ordre des Streptocoques lactiques 25%, des Lactocoques 22%, des *Leuconostoc* 20%, des Lactobacilles 15%, des Entérocoques 8%, des Pédicoques 5%, des Microcoques 3% et des *Brevibacterium* 2%. Ordonez et al., (1980), dans une étude sur un fromage espagnol « Roncal » a montré que la flore lactique est constituée par *Streptococcus lactis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Leuconostoc dextranicum* et *Leuconostoc lactis*. Ouali, (2003) : a signalé dans leur étude sur la Qualité du fromage à pâte molle type Camembert fabriqué à la laiterie de Draa Ben Khedda, que la flore lactique a une quantité relativement abondante des Streptocoques et des lactobacilles, aussi bien à l'intérieur que sur la croûte du fromage.

#### II.4. Les interactions

L'activité antibactérienne de la totalité des souches lactiques thermophiles, isolées du fromage type Camembert : contre isolats pathogènes à Gram (-) : *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* sp, *Escherichia coli* et à Gram (+) (*Staphylococcus aureus*), isolées à leurs tour des échantillons du fromage, a été évaluée, sur un milieu complexe, le Muller Hinton comme support des interactions, afin de mettre en évidence un éventuel pouvoir antagoniste.

D'après nos résultats, les souches Streptocoques thermophiles et Lactobacilles sp isolées des fromages type : camembert, ont exhibée, une activité inhibitrice plus ou moins prononcée sur les isolats pathogènes isolées de même fromages : *Pseudomonas aeruginosa* *Staphylococcus aureus*, avec obtention des zones d'inhibition plus ou moins importantes (en mm). La plus grande zone d'inhibition ( $\Phi$ : 44 mm) a été obtenue entre St 30 et *Pseudomonas* sp ; suivi une deuxième ( $\Phi$  : 31 mm) obtenue entre Lb 26 et *Salmonella* sp

En revanche, une faible activité a été enregistré vis à vis des souches à Gram (-) *Salmonella typhimurium* et sur des souches *Escherichia coli*.

Ces résultats indiquent que nos souches lactiques, semblent en mesure de synthétiser des probables substances inhibitrices, ayant une activité antibactérienne exercée essentiellement par les acides organiques, les bactériocines, le diacétyle et le peroxyde d'hydrogène (Titiek et al., 1996 ; Aslam et Qazi, 2010).

Par ailleurs, Charlier et al., (2009) avaient, montré que : *Lactococcus* sp et *Leuconostoc* sp présentent une inhibition à un spectre élargi vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, cet effet inhibiteur a été attribué à l'effet de l'acide lactique et des probables substances bioactives comme les bactériocines.

De même, selon Ammor *et al.*, (2006), la capacité inhibitrice *in vitro* des bactéries lactiques vis-à-vis des germes pathogènes, semble être une bonne propriété probiotique, comme elle peut jouer un rôle dans la préservation de la qualité hygiénique des denrées alimentaires

Il est à noter que l'activité (bactériocinogène) de production de bactériocines, comme toute activité biologique de la cellule procaryote, nécessite une dépense d'énergie sous forme d'ATP par la cellule productrice, ces bactériocines doivent, donc, être fonctionnellement indispensables pour l'existence et la survie de ces cellules bactériennes pour qu'elles puissent les produire.

En effet, la production de bactériocines est un système de défense dont les bactéries lactiques utilisent contre les autres bactéries antagonistes, avec lesquelles elles entrent en compétition pour l'habitat et les nutriments.

Sous les conditions du laboratoire (*In vitro*) où la bactérie se trouve en monoculture, en absence de concurrence et en excès de nutriments, la production de bactériocines s'avère alors, comme un processus biologique aisé pour la bactérie lactique (Riley et Chavan, 2007).

Cette hypothèse pourrait expliquer, donc, le fait que les souches lactiques thermophiles, isolées dans notre travail, synthétiseraient des molécules bioactives dans les conditions testées.

Les bactéries lactiques thermophiles, se caractérisent par : la production des agents antimicrobiens, ou les bactériocines, ce qui inhibe la croissance de certaines souches d'altération des aliments et d'autres pathogènes (Labioui *et al.*, 2009; Moghaddam *et al.*, 2006), par leur pouvoir d'acidification, de protéolyse (Atanasova *et al.*, 2014) et d'aromatisation (production des composés aromatiques bioactifs) Liu *et al.*, (2013).

Les diamètres des zones d'inhibitions obtenus, variées en fonction des souches lactique productrice, mise en contact avec la souche cible, car la production de bactériocines, par les bactéries lactiques, est fortement dépendante des souches productrices, et d'autres facteurs, à l'exemple de la composition du milieu de culture, du pH final du milieu, du temps et de la température d'incubation, de la température optimale de croissance relative à la souche productrice, et surtout, elle nécessite l'utilisation des milieux de culture riches et complexes (Yang *et al.*, 1992) : ces facteurs ont exigé, l'utilisation du milieu complexe Muller Hinton, comme support des interactions entre nos souches lactiques thermophiles et les souches indicatrices (à Gram + et Gram -) isolées du fromage.

De plus, (Gomes *et al.*, 1998; 1998; Vinod- Kumar *et al.*, 2006), ont démontré que le pH optimal de production des bactériocines, par les bactéries lactiques, est au environ 06,5 et ils ont confirmé que l'action de ces bactériocines, est maximale au même point du pH (06,5).

En outre, la différence dans l'activité inhibitrice, entre les souches d'une même espèce, peut être due à une faible homologie de leurs acides nucléiques, responsables des caractères héréditaires codant pour la production de ces molécules (Sutra et al., 1998).

Plusieurs souches d'appartenance aux espèces lactiques thermophiles, ont été caractérisé pour leur production de bactériocines, *Streptococcus thermophilus* (Marciset et al., 1997; Whit-Ford et al., 2001; Mathot et al., 2003 ; Fontaine et Hols, 2008). aussi aux espèces *Lactobacillus* thermophiles : (Thompson et al., 1996; Zamfir et al., 1999; 2000; Moghaddam et al., 2006), thermostables pour la plus part. Ces bactériocines avaient une stabilité à des pH acides, et des larges spectres d'activité contre des procaryotes à Gram (-) et à Gram (+).

La fréquence de la production des bactériocines diffère selon les espèces, voir selon les souches (activité souche dépendante), à l'intérieur de la même espèce.

Luo et al., (2011) : ont démontré que seulement cinq souches sur un total de 5/256 (soit : 1,95% ) souches de bactéries lactiques testées avaient produit des bactériocines.

De même, Salminen et al., (2004 ; 2004), ont signalé que seulement quatre sur cinquante- deux (4/52 : soit : 07,7%) souches de bactéries lactiques étaient productrices de bactériocines, et que la majorité des souches de *Pediococcus acidipropionici*, *Pediococcus jensenii*, et *Pediococcus thoenii* avaient présenté une activité bactériocinogène, tandis que seulement six sur cinquante- deux (6/52 soit: 11,53%) souches de *Pediococcus freudenreichii* avaient cette activité bacteriocinogène.

En outre, Gastro et al., (2011) : n'ont isolé qu'une seule souche lactique bactériocinogène sur un ensemble de 141 (1/141) souches lactiques testées.

De même, Ammor et al., (2006) ont isolé des souches lactiques dont l'effet antagoniste était restreint uniquement aux bactéries à paroi Gram positif, celles à Gram négatif étant résistantes.

Toutes les bactériocines, produites par des bactéries lactiques, décrites jusqu'à présent ont une activité dirigée beaucoup plus contre les bactéries à Gram positif (Onda et al., 2003).

Cependant, des études récentes ont démontré qu'il existe certaines bactériocines qui sont actives également contre des bactéries à Gram négatif (Gong et al., 2010; Naghmouchi et al., 2010).

D'une façon générale, les bactériocines sont actives contre les souches taxonomiquement proche de l'espèce productrice (Mohamed et al., 1996).

Le siège d'activité des bactériocines est la membrane cellulaire et ayant le plus souvent le peptidoglycane comme cible, raison pour laquelle les bactériocines n'ont pas ou ayant une faible activité contre les bactéries à Gram négatif dont la couche de peptidoglycane est mince.

L'espèce *Streptococcus thermophilus* est l'une des espèces, les plus utilisées en industrie laitière (El Sharoud et *al*, 2013), elle est classée en deuxième position, après l'espèce *Lactococcus lactis* (Hols et *al.*, 2005).

# *Conclusion et Perspectives*

## Conclusion

Les fromages, notamment ceux à pâte molle, sont des vecteurs potentiels pour la transmission des espèces microbiennes pathogènes et/ou toxigènes: à l'exemple d'*Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Listeria* sp. et *Brucella* sp.

En industrie fromagère, les opérations de contrôle de qualités physico-chimiques et microbiologiques revêtent une importance capitale; permettant l'obtention d'un produit de bonne qualité hygiénique et sans défauts organoleptiques.

La présente étude avait fixé comme objectif préalable, le contrôle microbiologique et physico-chimique du fromage à pâte molle type *Camembert*, collecté dans la wilaya de Bordj Bou Arreridj, durant la saison printanière 2018, d'élaborer un souche lactique thermophile après son dénombrement, d'explorer ces effets bactériocinogènes in vitro, dirigé contre des isolats d'altération du fromage à Gram négatif et à Gram positif.

Les résultats relatifs aux analyses physico-chimiques ont donné les moyennes : pH interne 6,57, pH de la croûte 8,63, acidité titrable 26, l'ensemble des échantillons étaient conformes aux normes nationales.

Les analyses microbiologiques ont révélé, la présence, en charges élevées, des flores adventices, indicatrices des pollutions diverses : Coliformes fécaux, Streptocoques fécaux et *Staphylococcus aureus*.

Pour déterminer l'origine des contaminations susmentionnées, il est souhaitable d'approfondir l'étude par: un effectif, plus élevé, des échantillons avec un plan d'échantillonnage plus élargi, et d'analyser la matière première, le personnel et les surfaces de fabrication et d'emballage.

## **Perspectives**

Les résultats de la présente étude, ne sont que primordiaux et sont loin d'être concluants. L'étude mérite d'être complétée par:

Un effectif et un plan d'échantillonnage plus élargi, établit sur plusieurs marques de fromages et leurs matières premières et étalé sur les 04 saisons de l'année.

Il est souhaitable, en perspective de réaliser les parties pratiques suivantes:

Analyses microbiologiques:

- La flore de la croûte
- Les flores associées à la masse du fromage
- Suivi des dynamiques des flores microbiennes au cours de l'affinage
- Recherche des espèces pathogènes et toxigènes suivants :
  - *Listeria monocytogenes*
  - *Escherichia coli*

Analyses physicochimiques par:

- Dosage des sels.
- Détection des éventuels stabilisateurs.
- Dosage des chlorures
- Détermination des taux des protéines.
- Détermination de la matière grasse.

*Références  
bibliographiques*

## Références bibliographiques

- Achemchem, F. & Abrini, J. (2005)**: Production de bactériocines par des bactéries lactique isolées à partir du *Jben* de chèvre du nord du Maroc. *Tétouan, Maroc*. Pp: 170-182.
- AFNOR. (1980)**. Association Française de normalization, lait et produits laitiers, méthodes d'analyse, Pp.33-34.
- Ait-Belgnaoui A., Lamine F., Han W., Eutamene H., Fioramonti J., Buenol L. et Theodorou B., (2005)**. A probiotic strain (*Lactobacillus farciminis*) prevents stress-induced increase of colonic permeability and visceral sensitivity to distension in rats. *Nutr. Ali. Fonct.* 3 : 59-63.
- Alakomi H. L., Skytta E., Saarela M., Mattila-Sandholm T., Latva-Kala K. & Helander I. M. (2000)**. Lactic acid permeabilizes Gram negative bacteria by disrupting the outer membrane. *Appl. Environ Microbiol.* 66, Pp: 2001-2005.
- Al-kotami S., Abou-Ghorrah S. & Yazaji S. (2015)**. Detection and isolation of lactic acid bacteria and its use as local starters in Syrian Akawi cheese processing. *International Food Research Journal* 22(4): 1699-1704.
- Allouche F.N., Hellal A., Laraba A. (2010)**. Etude de l'activité antimicrobienne des souches de *Lactobacillus* thermophiles utilisées dans l'industrie laitière.
- Alomar J., (2007)** .Etude des propriétés physiologiques de *Lactococcus Lactis* et *Lactococcus gravierae* pour la maîtrise de *Saphylococcus aureus* en technologie fromagère .Thèse Doctorat INPL (Nancy)
- Ammor S., Tauveron G., Dufor E. and Chevalier I. (2006)**. Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small scale facility 1-Screening and characterization of antibacterial compound. *Food Control.* 17. Pp : 454- 461.
- AOAC. (2000)**. Official Methods of Analysis. 15<sup>e</sup> Ed . *Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C.*
- Apha, (2004)**. Standard methods for the examination of dairy products. (a) Moisture/solids, Forced Draft Oven, Milk (Class A1), Other products (Class B), pp.449-451. (b) Chloride (Salt) Volhard Method (Class 0), pp.387-389. (c) Acidity, Titratable Phenolphthalein indicator (Class 0), Pp.364-366.
- Ashraf R and Shah N P (2011)**. Selective and differential enumerations of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium* spp. in yoghurt. A review. *International Journal of Food Microbiology* 149, (2011) 194, Pp 208.
- Ashraf R and Smith S.C (2015)**. Selective enumeration of dairy based strains of probiotic and lactic acid Bacteria. *International Food Research Journal* 22(6), Pp: 2576- 2586. Journal home page: <http://www.ifrj.upm.edu.my>.
- Aslam S and Qazi, J.I. (2010)**. Isolation of acidophilic lactic acid bacteria antagonistic to microbial contaminants. *Pakistan. Jo. Zool.* 42(5), Pp: 567- 573.
- Aslim B., Yucel N., and Beyatli Y. (2004)**. Effect of a bacteriocin- like substance (B.L.S) produced by *Streptococcus thermophilus* strains on *Listeria* spp strains. *Journal of Food Processing Preservation.* 28, Pp: 241- 250.
- Atanasova J, Ivanova P.M.I (2014)**. Proteolytic and antimicrobial activity of lactic acid bacteria grown in goat milk. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 2014. Vol. 28, No. 6, 1073- 1078.

## Références bibliographiques

---

- Axelsson L., (2004).** Classification and physiology. *In* : Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects ((Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). *3e Ed., Marcel Dekker, Inc.* NewYork. 1-66.
- Ayhan K, Durlu- ozkaya F, and Tunail N (2005).** Commercially important characteristics of Turkish origin domestic strains of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. *Int. Jo. Dairy Technol.*, 58 (3), Pp: 150- 157.
- Badis A., Laouabdia-Sellami N., Guetarni D., Kihal M. et Ouzrout R. (2005).** Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales "arabia et kabyle". *Sciences & Technologie C.* 23. Pp: 30-37.
- Bahraoui A, (2001) :** Contribution à l'étude microbiologique et physicochimique du fromage fondu pasteurisé fabriqué à l'unité du « L.F.B ». Thèse de fin d'étude en vue de l'obtention de Diplôme d'études supérieur en biologie, Option : Microbiologie. Pp:75
- Baroiller. C. & Schmidt. JL. (1989) :** Contribution à l'étude de l'origine des levures du fromage de Camembert. *INRA, Paris-Grignon, laboratoire de recherches de la chaire de technologie, 78850 Thiverval-Grignon, France.*
- Béal C. & Sodini I. (2012).** Fabrication des yaourts et des laits fermentés, *Techniques de l'Ingénieur* f6315, Paris-France, Pp: 16.
- Béal C., Marin M., Fontaine E., Fonseca F. et Obert J.P. (2008).** Production et conservation des ferments lactiques et probiotiques. *In* : Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). *Tec et Doc, Lavoisier.* Paris. Pp: 661-765.
- Benloucif, R., Oulmi, A. (2017) :** Etude du procédé de production du fromage du type *camembert* : Effet de la nature des microorganismes sur la qualité du produit. Thèse de Master Professionnalisant-Université Frère Mentouri Constantine 1. Pp120:
- Bennama R, Ladero V, Alvarez M. A, Fernández M and A Bensoltane (2012).** Influence of lactose and sucrose on growth and acetaldehyde production by three strains of *Streptococcus thermophiles*. *International Conference on Applied Life Sciences (ICALS 2012)* Turkey, September 10-12, 2012.
- Bennama R, Rechidi- Sidhoum N and Bensoltane A (2011).** Effect of threonine on Growth and Acetaldehyde Production by *Streptococcus thermophiles* *World Applied Sciences Journal* 15 (2): 160- 163.
- Benotmane F, (2017) :** Contrôle physico-chimique et microbiologique du *camembert*. Mémoire de Master- Université Abou bekr Belkaid Tlemcen. P: 93.
- Bergey's Manual,** Manual of determinative bacteriology, William and Wilkin, Baltimore, (1986-1989).
- Beuvier E., Buchin S., (2004).** Raw milk cheeses: chemistry, physics and microbiology Timothy Academic Press. Vol 1 (2004) 319-345
- Blom H. & Mortvedt C., (1991).** Anti-microbial substances produced by food associated microorganisms. *Biochem. Soc. Trans.*, 19 (3). Pp: 694-8.
- Bourgeois C.M. & Larpent J.P., (1996).** Microbiologie alimentaire : Aliments fermentés et fermentations alimentaires. *Tec et Doc, Lavoisier.* Paris, Pp: 432-704.
- Caplice, E., et Fitzgerald, G.F. (1999).** Food fermentations: role of micro-organisme in food production and preservation. *Int. J. Food Microbiol.* 50,Pp: 131-146.
- Carr F.J., Chill D. et Maida N., (2002).** The lactic acid bacteria .Critical Review in Microbiology.20.281-370

- Centi V., Matteucci F., Lepidi A., Del Gallo M., Ercole C. (2017).** Microbiological and biochemical aspects of inland Pecorino Abruzzese cheese. Department of Life, Health and Environmental Sciences, University of L'Aquila, Coppito, L'Aquila 67010, Italy.
- Chahbal, M. (1991).** Antimicrobial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. *Appl. Environ. Microbiol.* 55, Pp: 1901-1906.
- Chahbal, M. (1993).** Isolation and characterization of acidocin A and cloning of the acteriocin gene from *Lactobacillus acidophilus*. *App. Environ. Microbiol.* 61, Pp: 1061-1067.
- Chamba J.F. and Prost F. (1989).** Mesure de l'activité acidifiante des Bactéries lactiques, thermophiles pour la fabrication de fromage à pâte cuite. *Lait.* (69). Pp 417- 431.
- Chambre M., Daurelles J., (1997).** Le fromage fondu. In: Eck A. et Gillis. Le fromage. Ed.Tec et Doc Lavoisier, p. 691-708.
- Charlier C., Cretenet M., Even S. & Le Loir Y., (2009).** Interactions between *Staphylococcus aureus* and lactic acid bacteria: An old story with new perspectives. *Int. Jo. Food Microbiol.* 131 :30-39.
- Chaves A. C. S. D, Fernandez M, Lerayer A. L. S, Mierau I, Kleerebezem M, and Hugenholtz J (2002).** Metabolic Engineering of acetaldehyde production by *Streptococcus thermophiles* *Applied and Environmental Microbiology*, Nov. 2002, p. 5656- 5662 Vol. 68, No. 11.
- Chaves A.C, Ruas- Madiedo P, Starrenburg M, Hugenholtz J and Lerayer A.L (2003).** Impact of engineered *Streptococcus thermophilus* strains over-expressing *glyA* gene on folic acid and acetaldehyde production in fermented milk. *Brazilian Journal of Microbiology* 34 (suppl.1). Pp : 114-117.
- Chaves A.C.S.D., Ruas- Madiedo P., Starrenburg M., Hugenholtz J & Lerayer A.L.S (2003).** Impact of engineered *streptococcus thermophilus* strains overexpressing *glyA* gene on folic acid and acetaldehyde production in fermented milk. *Brazilian Journal of Microbiology* (2003) 34 (suppl.1):114- 117- ISSN. 1517- 8382.
- Chemache Loucif, (2011) :** Qualité de deux spécialités fromagères fabriquées et commercialisées en Algérie  
Thèse de Magister - Université Mentouri Constantine, Algerie. Page : 122.
- Cholet O. (2006).** Etude de l'écosystème fromager par une approche biochimique et moléculaire. Institut National Agronomique Paris-Grignon. Ecole Doctorale *Abies. UMR de Génie et Microbiologie des Procédés Alimentaires INRA, INA.* Pp:16.
- Cogan T.M. (1986).** The leuconostocs: Milk products. In: Gilliland, S.E. (Ed.), *Bacterial Starter Cultures for Foods*, CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 25-40.
- Condon,S. (1987).** Responses of lactic acid bacteria to oxygen. *FEMS Microbiology Letters* 46, Pp: 269-280.
- Coulon. J. B, Delacroix- Buchet. A, Martin B, Pirisi A., (2005).** Facteurs de production et qualité sensorielle des fromages. INRA, *Prod. Anim.*, 2005, 18 (1), 49- 62.
- Courtin P and Rul F (2004).** Interactions between microorganisms in a simple ecosystem: yogurt bacteria as a study model, *Lait*, 84, 125- 134.
- Courtin, P., Monnet, V. and Rul, F. (2002).** Cell- well proteinases *PrtS* and *PrtB* have a different role in *Streptococcus thermophilus*, *Lb. bulgaricus* mixed cultures in milk. *Microbiology*, 148: 3413- 3421.
- D'Amico Dennis J., & Donnelly Catherine W (2017):** Growth and Survival of Microbial Pathogens in Cheese; Chapter 22. In: *Cheese: Chemistry, physics, and Microbiology. General aspects.* 4<sup>th</sup> Edition Copyright © 2017 Elsevier Ltd. All rights reserved. Pp : 573- 598.

- Dahou A, Bekada A M A Homrani A, Latreche B & Ait Saada D (2017).** Effect of processing technology on the biodiversity of the Bacterial flora of an Industrial cheese camembert soft type. *Advances in Bioresearch Adv. Biores., Vol 8 (6) November 2017: 197-207* © Society of Education, India.
- Dahou A. (2017) :** Etude de l'évolution de la flore microbienne indigène d'un fromage industriel à pâte molle type *camembert* au cours de son affinage et évaluation de ses aptitudes technologiques. Thèse de doctorat-Université de Mostaganem. P: 132.
- Davidson B. E., Kordias N., Dobos M., et Hillier A. J. (1996).** Genomic organization of lactic acid bacteria. Antonie Van Leeuwenhoek, *Int. J. Gen. Mol. Microbiol.* 70, Pp: 161-183.
- Davidson C. M and Cronin F (1973).** Medium for the selective enumeration of lactic acid bacteria from foods. *Applied Microbiology*, 26(3), Pp: 439- 440.
- De Man J. C., Rogosa M. and Sharpe M. E. (1960).** A medium for the cultivation of *Lactobacilli*. *Jo. Appl. Bacteriol*, 23, Pp: 130- 135.
- De vuyst L, Vanderveken F, Van de Ven S and Degeest B (1998).** Production by and isolation of exopolysaccharides from *Streptococcus thermophilus* grown in milk medium and evidence for their growth- associated biosynthesis. *Jo. Appl. Microbiol*, 84: 1059- 1068.
- Degeest B, Mozzi F and De vuyst L (2002).** Effect of medium composition and temperature and pH changes on exopolysaccharide yields and stability during *Streptococcus thermophilus* LY03 fermentations. *International Journal of Food Microbiology*, 79, 161– 174.
- Dellaglio F., De Roissard H., Torriani S., Curk M.C. et Janssens D., (1994).** Caractéristiques générales des bactéries lactiques. In : Bactéries lactiques (De Roissard H. et Luquet F.M.). *Lorica, Uriage*. 1 : 25-116.
- Delorme C (2008).** Safety assessment of the dairy microorganisms: *Streptococcus thermophilus*. *International Journal of Food Microbiology*. 126, Pp: 274 – 277.
- Desmazeaud M. et Cogan T.M. (1996).** Role of cultures in cheese ripening. In: Cogan T.M.,Accolas J.P (Eds.), Dairy Starter Cultures. *VCH Publishers, Inc.*, New York. pp. 207-231.
- Desmazeaud M., (1998).** Bactéries lactiques et qualité des fromages. Lab. de recherches laitières .INRA. 1-3.
- Dib H., Hajj Semaan E. & Noureddine Z. (2008).** Caractéristiques chimiques et microbiologiques des fromages libanais issus d'industries locales *Lebanese. Science Journal, Vol. 9, No. 2, 2008*.
- Dortu C. et Thonart P. (2009).** Les bactériocine des bactéries lactiques: caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. *Biotech. Agro. Société et Environnement*. 13 (1): Pp 1-5.
- Dubernet S., Desmasures N.,Guéguen M.,(2008).**Diversity and dynamics of Lactobacilli populations during ripening of RDO Camembert cheese.*Canadian Journal of Microbiology* . 54, 218-228.
- Eck A. (1990).** Le Fromage 3eme Edition, Techniques et Documentation, Lavoisier, Paris.
- Eck. A , Gillis J.C , (2006)** Le fromage , 3ème édition TEC et DOC.891p
- El sharoud W.M., Delorme C., Darwishm S., Andrenault P., (2013).**Genotyping of *Streptococcus thermophilus* strains isolated from traditional Egyptian dairy products by sequence analysis of the phosphoserine phosphatase (serB) gene with phenotypic characterizations of the strains. *Journal of Applied Microbiology* ISSN 1364- 5072.
- El Sharoud WM, Delorme C, Darwish MS, Renault P (2013).** Genotyping of *Streptococcus thermophilus* strains isolated from traditional Egyptian dairy products by sequence analysis of the phosphoserine phosphatase (serB) gene with phenotypic characterizations of the strains. *Journal of Applied Microbiology* 112: 329- 337.

- El-Ghaish S., Ahmadova A., Hadji-Sfaki I., El Mecherfi K.E., Bazukyane I., Choiset Y., Rabesona H., Sitohy M., Popov Y.G., A. Kuliev A., Mozzi F., Chobert J.M. et Haertlé T. (2011).** Potential use of lactic acid bacteria for reduction of allergenicity and for longer conservation of fermented foods. *Tre. Food Sci. Technol.* Pp: 1-8.
- Fontaine L and Hols P. (2008).** The Inhibitory spectrum of *Thermophilin 9* from *Streptococcus thermophilus* LMD- 9 depends on the production of multiple peptides and the activity of blpgst, a Thiol- Disulfide Oxidase. *Appl. Environ. Microbiol.*, 74(4), 1102- 1110.
- Ganesan B, and Weimer B. C. (2017).** Amino acid catabolism and its relationship to cheese flavor outcomes *In: Cheese: Chemistry, physics, and Microbiology. General aspects' Ch 19. 4<sup>th</sup> Edition Copyright © 2017 Elsevier Ltd. All rights reserved. Chapter : 19 Pp : 483- 511.*
- Germond J.E, Marciset O and mollet B (1995).** Bacteriocins from *Streptococcus thermophilus* PCT, *Int Patent Classification*, WO95/ 067736.
- Gerrit S., Bart A.S. et Wim J.M.E. (2005).** Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. *FEMS. Microbiol. Rev.* 29. Pp : 591-610.
- Giraffa G and Bergere, J.L (1987).** Nature du caractère épaississant de certains souches de *Streptococcus thermophilus* : étude préliminaire. *Le Lait*, 67, (3): 285- 298.
- Giraffa G, Paris A, Valcavi L, Gatti M, and Neviani E (2001).** Genotypic and phenotypic heterogeneity of *Streptococcus thermophilus* strains isolated from dairy products. *Journal of Applied Microbiology*.91, 937- 943.
- Gomes A.M.P, Malcata, Y.F. and Claver F.A. (1998).** Growth enhancement of *Bifidobacterium*. *Journal of Dairy Science*, 81, 1817- 2825.
- Gomes A.M.P, Vieira M.M, Malcata F.X (1998).** Survival of probiotic microbial strains in a cheese matrix during ripening: simulation of rates of salt diffusion and microorganism survival. *Journal of Food Engineering* 36, 281- 301.
- Gong H. S., Meng X. C., Wang H. (2010).** Plantaricin MG active against Gram- negative bacteria produced by *Lactobacillus plantarum* KLDS1.0391 isolated from "Jiaoke", a traditional fermented cream from China. *Food. Cont.*, 21, Pp: 89- 96.
- Grade S., Avila M., Medina M and Nunuz M. (2004).** Fast induction of nisin resistance in *Streptococcus thermophilus* INIA463 during growth in milk. *International Journal of Food Microbiology*, 96, Pp: 165- 172.
- Guarault P, Le tort C, Juillard V and Monnet V (2000).** Branched- Chain amino acid biosynthesis is essential for optimal growth of *Streptococcus thermophilus* in Milk . *Applied Environmental Microbiology*. Pp. 5128- 5133.
- Guarault P, Le tort C, Juillard V and Monnet, V (2001) :** La biosynthèse des acides aminés a chaîne branchée et des purines, deux voies essentielles pour une croissance optimale des *Streptococcus thermophilus* dans le lait. *Le Lait* (81) : 83- 90.
- Guiraud J.P & Rosec J.P (2004).** Pratique des normes en Microbiologie alimentaire. AFNOR Pp : 237 - 251.
- Guiraud J.P. (1998).** Microbiologie alimentaire. 1e Ed., *Dunod*. Paris. Pp:136-144, 390-391.
- Guiraud J.P. (2003).** Microbiologie Alimentaire. *Tec & Doc, Dunod*. Paris. 90-292, 140-141.

- Guizani Nejib, Stefan Kasapis ,Zaher H. Al-Attabi& Mohamed H. Al-Ruzeiki (2002).** Microbiological, physicochemical, and biochemical changes during ripening of camembert cheese made of pasteurized cow's milk, *International Journal of Food Properties*, 5: 3, 483- 494 <https://doi.org/10.1081/JFP-120015486>.
- Gupta S.K., Karahadian C., Lindsay R.C., (1984).** Effect of emulsifier salts on textural and flavour properties of processed cheeses. *J Dairy Sci.* vol. 67, p. 764–778.
- Gyosheva, B., Petrova, I. & Mutafchieva, M. (1995).** Preservation of *Streptococcus thermophilus* strains after long term storage in lyophilized state. *Journal of Culture. Collection.1* : 34-37 .
- Hait Jennifer B.S. (2012).** *Staphylococcus aureus* In: Food and Drug Administration. Bad Bug Book, Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins. Second Edition. 2012. Editor (Keith A. Lampel, Sufian Al- Khaldi, Susan Mary Cahill). Pp: 87.
- Hamama A, Zahar M, El Marrakchp A, Aboulalai F and Bent Mohamed Abderrahman M (1995).** Préparation du fromage frais à partir du lait recombiné. *Actes. Inst. Agron. Veto.* (Maroc) 1995, Vol. 15 (4): 21- 26.
- Hardy J , (2004)** .Le chlorure de sodium dans le lait et les produits fromagers .In : Gaucheron.F editor.Minéraux et produits laitiers,Paris ,France :Lavoisier Tec et Doc-pp 619-643
- Ho T.N.T., N. Tuan N., Deschamps A. et Caubet R. (2007).** Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the Nem Chua fermented meat product of Vietnam. *Int. Workshop on Food Safety and Processing Technology.* Pp:134-142.
- Hols P, Hancy F, Fontaine L, Grossiord B, Prozzi D, Leblond- Bourget N, Decaris B, Bolotin A , Delorme C, Ehrlich D, Guedon E, Monnet V, Renault P and Kleerebezem M (2005).** New insights in the molecular biology and physiology of *Streptococcus thermophilus* revealed by comparative. *FEMS. Microbiology. Reviews*, (29): 435– 463.
- Iyer R, Tomar S K, Maheswari T U and Singh R (2010).** *Streptococcus thermophilus* strains: Multifunctional lactic acid bacteria. *International Dairy Journal* 20 (2010) 133- 141.
- Iyer R, Tomar S.K, Kapila S, Mani J and Singh R (2010).** Probiotic properties of folate producing *Streptococcus thermophilus* strains. *Food Research International* 43 103- 110.
- Joffin C. & Joffin J.N. (1999).** Microbiologie alimentaire. Ed. Centre Régional de Documentation Pédagogique d'Aquitaine. Pp : 70-73.
- Jordano R., Serrano C. E, Torres M, and Salmeron J (1992).** Comparison of three M17 media for the enumeration of *Streptococcus thermophilus* in fermented dairy product. A research note. *Journal of Food Protection*, Vol. 55, December 1992.
- Karimi, R., Mortazavian, A. M., & Da-Cruz, A.G., (2011).** Viability of probiotic microorganisms in cheese during production and storage: A review. *Dairy Science and Technology* 91, 283- 308.
- Keddie R. M. (1951).** The enumeration of *Lactobacilli* on grass and in silage. *Proc. Soc. Appl. Bacteriol.* 14, Pp: 157- 160.
- Klaenhammert R. (2000).** Probiotic bacteria : Today and tomorrow. *J. Nutr.* 130: 415-416.
- Labioui H., Elmoualdi L., Benzakour A., El yachioui M., Berny E., Ouhssine M. (2009).** Etude physicochimique et microbiologique de lait crus. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 148, Pp : 7- 16.
- Labioui H., Elmoualdi L., El Yachioui M. et Ouhssine M. (2005).** Sélection de souches de bactéries lactiques antibactériennes. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux.* 144, Pp : 237-250.

## Références bibliographiques

---

- Labres A.D. & Hamza A. (2002).** Cours national d'hygiène et de microbiologie des aliments « Microbiologie des laits et produits laitiers », Institut Pasteur d'Algérie.
- Laithier.C.(2011)** Les fromages du terroir et microflore du lait cru. Ouvrage collectif de l'institut d'élevage 149 rue de Bercy 75595 Paris, Juillet 2011. 131p
- Larpent J.P., (1997).** Microbiologie alimentaire. *Tec & doc, Lavoisier.* Paris. 10-72.
- Larpent J.P., Copin M.P., Germonville A., Jaquet M., Thétas J.L. et Fontaine M.B.(1997).** Microbiologie du lait et des produits laitiers, manipulation n : 56, *In : Microbiologie alimentaire, Technique de Laboratoire, Edition Tech et Doc Lavoisier.* Paris, Pp : 799-780
- Le tort C, Nardi M, Garult P, Monnet V and Juillard V (2002).** Casein utilization by *Streptococcus thermophilus* results in a diauxic growth in milk. *Appl. Environ. Microbiol*, 68; (6): 3162- 3165.
- Leclercq Perlat M.N, Picque D, Martin del Campo Barba S.T. and Monnet C (2013).** Dynamics of *Penicillium camemberti* growth quantified by real-time PCR on Camembert-type cheeses under different conditions of temperature and relative humidity *Jo. Dairy Sci.* 96: 4031- 4040. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2012-6372>
- Legraet and Brule. (1988).** Migration des macro et oligo-éléments dans un fromage à pâte molle type *Camembert*. *Lait* 68, 219- 234.
- Leroy F. et De Vuyst L. (2004).** Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends Food Science and Technology*, 15, Pp: 67–78.
- Lessard M.H. (2014) :** Le suivi de la croissance et de l'activité spécifique des mycètes pendant l'affinage du *Camembert*. Thèse de Doctorat en sciences et technologie des aliments-Université Laval Québec, Canada.
- Lessard Marie-Hélène, Bélanger Gaétan, Gelais Daniel St-, and Labrie Steve (2012).** The Composition of *Camembert* Cheese- Ripening Cultures Modulates both Mycelial Growth and Appearance. *Applied and Environmental Microbiology* Pp: 1813 -1819.
- Lindgren, S. E., et Dobrogosz, W. J. (1990).** Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentation. *FEMS Microbiol. Rev*, 87, Pp:146-164.
- Liu M, Bayjanov J R, Renckens B, Nauta A, Siezen R J (2013).** The proteolytic system of lactic acid bacteria revisited: a genomic comparison. *BMC Genomics* 2010, 11: 36 <http://www.biomedcentral.com>.
- Lorenzen P.C, Ebert E, clawin, R I and Schlimme E (2003).** Influence of heat impact in reconstituted skim milk on the properties of yogurt fermented by roppy or non roppy starters cultures, *Nahrung Food* 47 (5), Pp: 349- 353.
- Louhichi M (2008):**Effet de l'irradiation sur la texture d'un fromage à pâte molle de type *camembert*. Thèse d'ingénieur. Université 7 Novembre de Carthage, Tunis Page : 76.
- Luo F, Feng, S., Sun, Q., Xiang, W., Zhao, J., Zhang, J., Yang, Z. (2011).** Screening for bacteriocin-producing lactic acid bacteria from kurut, traditional naturally fermented yak milk from Qinghai-Tibet plateau. *Food Control*, 22. Pp: 50- 53.
- Luquet F.M et Corrieu G. (2005).**Bactéries lactiques et probiotiques. Edit .Tech.Doc .Lavoisier (Paris).Pp:343-408.
- Madingo M. et Martinko J., (2004).** Biologie des micro-organismes .Onzième édition Pearson Education France.

- Magnusson J. et Schnurer J. (2001).** *Lactobacillus coryniformis* subsp. *Coryniformis* strain Si3 produces a broad-spectrum proteinaceous antifungal compound. *Appl. Environ. Microbiol.* 67:1-5.
- Magri, W., Belarouci, M., Meriouli, Y. (2016):** Contribution à l'étude de la qualité physico-chimique et microbiologique du fromage fondu pasteurisé. Page : 80.
- Marciset O, Jeronimus- Strating M.C, Mallet, B and Poolman B (1997).** Thermophilin13, a non typical antilisterial poration complex bacteriocin that function without a receptor. *Jou. Biol. Chem.* 272, (22) 14277- 14284.
- Marth, E. H. et Steele, J. L. (2001).** Applied dairy microbiology. *Marcel Dekker, Inc.*, New York.
- Mathot A.G, Beliard E and Thuault D (2003).** *Streptococcus thermophilus* 580 produced a Bacteriocin potentiellement souhaitable for inhibition of *Clostridium tyrobutyricum* in hard cheese. *Jo of Dairy Scie*, 86, (10) : 3068- 3074.
- Mäyrä-Mäkinen A. et Bigret M. (2004).** Industrial use and production of lactic acid bacteria. *In : Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects* (Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). 3e Ed., *Marcel Dekker, Inc.* New York. 73-102.
- Mei J, Guo Q, Wu Y, Li Y, and Yu H (2015).** Study of proteolysis, lipolysis, and volatile compounds of a *camembert*- type cheese manufactured using a freeze- dried tibetan kefir co- culture during ripening. *Food. Sci. Biotechnol.* 24 (2): 393- 402 (2015. DOI 10.1007/s10068-015-0052-9.
- Mei J., Guo Q., Wu Y., Li Y, (2014).** Microbial Diversity of a Camembert-Type Cheese Using Freeze-Dried Tibetan Kefir Coculture as Starter Culture by Culture-Dependent and Culture-Independent Methods. Department of Food Science and Technology, School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai, P.R. China.
- Meribai A, Chibane N and A. Bensoltane (2017).** Physicochemical characterization and microbiological quality assessment of '*klila*': a traditional dried hard cheese, made from small ruminant's milk (Goat and Ewe) collected in Bibans areas (highlands) North- East of Algeria. *International Journal of Applied and Natural Sciences* Pp: 15- 24.
- Meyrand A., Boutrand- Loei S., Ray- Gueniot S., Mazuy C., Gaspard G C.E., Perrin C. Lapeyreand C. Vernozy-Rozand (1998).** Growth and enterotoxin production of *Staphylococcus aureus* during the manufacture and ripening of Camembert- type cheeses from raw goats' milk. *Journal of Applied Microbiology* 1998, 85, 537- 544.
- Mietton B. (1995).** Incidence de la composition des fromages au démoulage et des paramètres d'environnement sur l'activité des agents de l'affinage. *Revue des ENIL*, 189, 19-27.
- Mkrtchyan, H., Gibbons, S., Heidelberger, S., Zloh, M., Limaki, H.K. (2010).** Purification, characterization and identification of acidocin LCHV, an antimicrobial peptide produced by *Lactobacillus acidophilus* n.v. Er 317/402 strain narine. *Int.J. Antimicrobial Agents.* 35, Pp: 255-260.
- Moghaddam M Z, Sattari M, Mobarez A.M and Doctorzadeh F (2006).** Inhibitory effect of yogurt Lactobacilli bacteriocins on growth and verotoxins production of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7. *Pakist Journal of Biologic Sciences* 911, 2112- 2116. 2006.
- Mohamed A, Daw Fredrick R and Falkiner A (1996).** Bacteriocin, nature, function and structure. *Micro.*6. Pp : 467- 479.

- Monnet V., Latrille E., Béal C. et Corrieu G. (2008).** Croissance et propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques. *In* : Bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G. et Luquet F.M.). *Tec & Doc, Lavoisier*. Paris. Pp: 512-592.
- Mora D, Majuin E, Masiero M, Parini C, Ricci G, Manacini P. L and Daffonchio D (2004).** Characterization of urease genes cluster of *Streptococcus thermophilus*. *Journal of Applied Microbiology*. (96), 209- 219.
- Mora D, Monnet C, Parini C, Guglielmetti S, Mariani A, Pintus P, Molinari F, Daffonchio D and Manachini PL (2005)** Urease biogenesis in *Streptococcus thermophilus*. *Resea. In Microbiology*, 156, 897- 903.
- Moreno Y, Collado MC, Ferrús MA.,Cobo J.M., Hernández E, and Hernández M (2005)** Viability assessment of lactic acid bacteria in commercial dairy products stored at 4 C using LIVE/DEAD® BacLight™ staining and conventional plate counts. *International Journal of Food Sciences And Technology*.
- Mostefaoui A, Hakem A, Yabrir B, Boutaiba S and Badis A (2015).** Evaluation of biofilm formation by exopolysaccharide producer strains of thermophilic lactic acid bacteria isolated from Algerian camel milk. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 2015. 27(6): 513- 521.
- Motlagh A. M., Johson M. C.and Ray B. (1991).** Viability Loss of foodborne pathogens by starter culture metabolites. *Jo.Food protect*, Pp: 837-878.
- Naghmouchi, K., Belguesmia, Y., Baah, J., Teather, J., Drider, J. (2010).** Antibacterial activity of class I and IIa bacteriocins combined with Polymyxin E against resistant variants of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli*. *Research in Microbiology*.
- Neelakantan J., Shahani K.M., Arnold R.G. (1971).** Lipases and flavor development in some Italian cheese varieties. *Food Production Development*, 5,52-58.
- Nes I. F., Diep D.B., Havarstein L. S., Brurberg M. B., Eijsink V.G.H. et Holo H. (1996).** Biosynthesis of bacteriocine in lactic acid bacteria. *Antonine Leeuwenhoek*. 70, Pp: 113-128.
- Nunez M, Tomillo J, Gaya P. and Medina M (1996).** Bacteriocin quantification by the critical dilution method: a Comparison of arbitrary units with diameter and area of the zone of growth inhibition. *Milchwirtschaft*, 51: 07- 10.
- O'Brien N M, O'Connor T P (2017).** Nutritional Aspects of Cheese *In*: Cheese: Chemistry, physics, and Microbiology. General aspects. 4<sup>th</sup> Edition Copyright © 2017 Elsevier Ltd. All rights reserved. Chapter 24. Pp: 573- 598.
- Onda T., Yanagida F., Tsuji M., Shinohara T and Yokotsuka K. (2003).** Production and purification of a bacteriocin peptide produced by *Lactococcus sp.* strain GM005, isolated from Miso paste. *Int. Jo Food Microbiol*. 87, (1-2). Pp: 153- 159.
- Ordóñez J. A.,Masso J. A.,Marmol M. P et Ramos M. (1980).** Contribution à l'étude du fromage «Roncal » *.LE LAIT / MAI-JUIN 1980/ N° 595-596.*
- Ott R., Vije T., TenBrink B., Mont B. et Konings W. N. (1997).** Energy metabolism in *Streptococcus cremoris* during lactose starvation. *Archives of Microbiolo*.141, Pp: 348-352.

- Ouali. S. (2003) :** Qualité du fromage à pâte molle type *Camembert* fabriqué à la laiterie de *Draa Ben Khedda*: nature de la matière première et évaluation de l'activité protéolytique au cours de l'affinage et de l'entreposage réfrigéré du fromage. Thèse de Magister- Université Frères Mentouri Constantine. Pp :128.
- Ouwehand A.C. et Vesterlund S. (2004).** 11 Antimicrobial components from lactic acid bacteria.In: Salminen S., Ouwehand A., Von Wright A. (eds.). *Lactic Acid Bacteria: Microbial and Functional Aspects*, 3rd ed. *Marcel Dekker, New York*. 375–395.
- Oyetayo V.O., Adetuyi F.C. et Akinyosoye F.A. (2003).** Safety and protective effect of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* used as probiotic agent *in vivo*. *Afr. J. Biotech.* 2: 448-452.
- Parente E., Ricciardi A. et Addario G. (1994).** Influence of pH on growth and bacteriocin production by *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* 140NWC during batch fermentation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 41: 388-394.
- Pernoud S, Fremaux C, Sepulchre A, Corieu G and Monnet C (2004)** Effect of the metabolism of urea on the acidifying activity of *Streptococcus thermophilus* . *Journal of Dairy Science*, 87, 550- 555.
- Rhiat, M., Labioui, H., Driouich, A., Aouane, M., Chbab, Y., Driouich, A., Mennane, Z., Ouhssine, M.(2001).** Etude bactériologique comparative des fromages frais marocains commercialisés (Mahlabats) et des fromages fabriqués au laboratoire.
- Rijnen L, Yvon M, Van Kranenburg R, Courtin P , Verheul A , et al. (2003) .** Lactococcal aminotransferases AraT and BeaT are key enzymes for the formation of aroma compounds from amino acids in cheese. *Int Dairy J* 13 : 805-812.
- Riley M.A and Chavan M.A. (2007).** Molecular Evolution of Bacteriocins in Gram-Negative Bacteria, In: *Bacteriocins: Ecology and Evolution*, Ed Riley, M.A., Chavan, M.A. (Eds.). Pp: 5-18, ISBN 3-540-36603-2, Heidelberg, Germany.
- Rogosa M., Mitchell A.J, and Wiseman R.F. (1951).** A selective medium for the isolation and enumeration of oral and fecal lactobacilli.*Jo. Bacteriol.* 62, Pp: 132- 133.
- Rosengren A, (2012).** Microbiological food safety of cheese produced in Swedish small- scale dairies. Characteristics, growth and enterotoxin production of *Staphylococcus aureus*. Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences. Department of Microbiology. Uppsala. Licentiate Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala 2012. Pp: 60.
- Rulf V., Tourdot-Marechal R. et Yvon M., (2008).** Métabolisme et ingénierie métabolique. In: *Bactéries lactiques de la génétique aux ferments* (Corrieu G. et Luquet F.M.). *Tec & Doc, Lavoisier*. Paris. 271-447.
- Salminen S., Ouwehand A and Von Wright A (2004).** *Lactic Acid Bacteria : Microbial and Functional Aspect*. 3rd ed. *Marcel Dekker*. New Yourk. Pp: 375- 395, 628.
- Samarzija D., Autunac.N et Havranek J.L, (2001).** Taxonomy, physiology and growth of *Lactococcus lactis*.*Mljekarstvo* 51.35-48.
- Saoudi, Z. (2012) :** Caractérisation microbiologique et de la protéolyse du fromage traditionnel Algérien ‘*Bouhezza*’ de ferme. Thèse de Magister- Université Mentouri Constantine. Pp :114.
- Schirch V., Hopkins S., Villar E. et Angelaccio S. (1985).** Serine hydroxymethyltransferase from *Escherichia coli* : purification and properties : *J. Bacteriol.* 163, Pp: 1-7.

- Serhan M., Cailliez-Grimal C., Borges F., Revol-Junelles A.M., Hosri C. et Fanni J. (2009).** Bacterial diversity of Darfiyeh, a Lebanese artisanal raw goat's milk cheese. *Food Microbiol.* 26, Pp : 645-652.
- Serhan. M. (2008):** Valorisation durable des laits de chèvre de la région du Nord Liban. Transformation en fromage et établissement de caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques en vue de la création d'une appellation d'origine. Thèse de doctorat de l'INPL-Institut National Polytechnique de Lorraine. p : 200.
- Sharpe M.E and Fryer T. F (1965).** Media for lactic acid bacteria. *Lab. Pract.* 14, Pp: 697- 701.
- Singleton P.,(2002)** . Bactériologie, Dunod, Paris, pp : 381-394.
- Sofu A., (2017).** Analyses of Dynamics in Dairy Products and Identification of Lactic Acid Bacteria Population by Molecular Methods. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology.*
- Spinnler, H.E, and Corrieu, G. (1989).** Automatic method of to quantify starter activity based on pH measurement. *Journal. Dairy. Resea.*56, 755- 764.
- Sutra L, Federighi M. and Jouve J.L. (1998).** Manuel de bactériologie alimentaire. Ed: Polytechnica, Paris France, 308(6), Pp 31- 249.
- Tabak, S., Maghnia, D., Bensoltane, A. (2012).** The Antagonistic activity of the Lactic Acid Bacteria (*Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus bulgaricus*) against *Helicobacter pylori* Responsible for the Gastroduodenals Diseases. *Journal of Agricultural Science and Technology* . 2: 709-715 .
- Tabasco R, Paarup T, Janer C, Pelaez C and Requena T (2007)** Selective enumeration and identification of mixed cultures of *Streptococcus thermophilus* *Lactobacillus delbrueckii* sub sp *bulgaricus* *Lb acidophilus* *Lb paracasei* sub sp *paracasei* and *Bifidobacterium lactis* in fermented milk. *International Dairy Journal*, 17, 1107- 1114.
- Tadesse, G., Ephraim, E. & Ashenafi, M. (2004).** Assessment of the antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from borde of Shamita, traditional Ethiopian fermented beverage, on some food borne pathogens and effect of growth medium in the inhibitory activity. *Food Safety.*5 : 13-20.
- Tagg J.R. et MC Given A.R. (1971).** Bacteriocin activity can be detected and assayed by a modification of the punch hole *Method. Appl. Micro.* 21 (5), Pp: 943.
- Tagg J.R., Dajani A.S., Wanamaker L.W et Gray E.D. (1973).** Group (A) *Streptococci* bacteriocins. *The Journal.of Experimental. Medecine*, 11, 138, Pp: 68- 1183.
- Tailliez P., (2001).** Les bactéries lactiques, ces êtres vivants apparus il y a près de 3 milliards d'années. Mini-revue. *Lait* 81.1-11.
- Tamime A.Y., (2002).** Microbiology of starter cultures. In: Dairy microbiology handbook (Robinson R.K.). 3e Ed., John Wiley and Sons, Inc., New York. 261-366.
- Tarzaghi B.E and Sandine W.E. (1975).** Improved medium for lactic Streptococcus and their bacteriophages, *Appl. Microbiol.* 29, Pp:807- 813.
- Terzic-Vidojevic A., Mihajlovic S., Uzelac G., Veljovic K., Tolinacki M., Nikolic M., Topisirovic L., Kojic M, (2014).** Characterization of lactic acid bacteria isolated from artisanal Travnik young cheeses, sweet creams and sweet kajmaks over four season. University of Belgrade, Institute of Molecular Genetics and Genetic Engineering, *Food Microbiology* Pp: 39, 27, 38.

- Thomas A and Chamba, J.F. (2000).** Mise en évidence de l'évolution des aptitudes technologiques des bactéries lactiques thermophiles utilisées dans les fromages à pâte pressée cuite. *Sciences des aliments* .20, Pp : 159- 167.
- Thompson J.K, Collins M.A and Meller W.D. (1996).** Characterisation of proteinaceous antimicrobial produced by *Lactobacillus helveticus* CNRZ 450. *Jour. Appl. Bact.* 804.3. Pp: 383- 348.
- Titiek F.D., Endang S.R., Djoko W & Slamet S., (1996).** Antimicrobial substance produced by *lactobacillus* sp. TGR-2 isolated from *Growol*. *Indonesian. Food Nutr. Prog.* 3(2) : 29-34.
- Uehara, S., Monden, K., Nomoto, K., Seno, Y., Kariyama, R., Kumon, H. (2006).** A pilot study evaluating the safety and effectiveness of *Lactobacillus* vaginal suppositories in patients with recurrent urinary tract infection. *Int. J. Antimicrobial Agents*, 28, Pp: 30-34.
- Van de Castele S., Vanheuverzwijn T., Ruysen T., Van Assche P., Swings J and Huys G. (2006).** Evaluation of culture media for selective enumeration of probiotic strains of *lactobacilli* and *Bifidobacteria* in combination with yoghurt or cheese starters. *International Dairy Journal* 16 (2006), Pp: 1470- 1476.
- Vinod- Kumar, J., Somesh, S. and Neerja, S. (2006).** Production, purification, stability and efficacy of bacteriocin from isolated of Natural Lactic acid fermentation of vegetables. *Food technology and Biotechnology*, 44(3), Pp 435- 439.
- Whitford M.F, Mc Pherson M.A, Forster, R.J and Teather R.M (2001).** Identification of bacteriocin like inhibitors from rumen *Streptococcus thermophilus* Ssp isolation and characterization of *bovicin* 255. *Applied and Environm Microbiol.* Pp: 569- 574.
- Wu Q, Tun Hm, Chi-Ching L.F, and Shah N.P (2014).** Genomic insights into high exopolysaccharide-producing dairy starter bacterium *Streptococcus thermophilus* ASCC 1275. *Scientific Reports* 4: 4974.
- Yang, R., Johnson, M.C. and Ray, B. (1992).** Novel method to extract large amounts of bacteriocins from lactic acid bacteria. *Appl. Environ. Microbiol*, 58, 3355- 3359.
- Yateem, A., Balba, M. T., Al-Surrayai, T., Al-Mutairi, B., Al-Daher, R.(2008).** Isolation of lactic acid bacteria with probiotic potential from camel milk. *Int. J. Dairy Sci.*, 3 Pp: 194-199.
- Zamfir M, Callewaert R, Cornea P.C. and De Vuyst L. (2000).** Production kinetics of *acidophilin* 801, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus* IBB 801. *FEMS Microbiol. Letters*, 190, Pp: 305- 308.
- Zamfir M, Callewaert R, Cornea PC, Savu L, Vatafu I, and De Vuyst L (1999).** Purification and characterization of a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus* IBB 801. *Jo. Appl. Microbiol*, 87, 923- 931.
- Zirnstein G. et Hutkins R., (2000).***Streptococcus: Streptococcus thermophilus* In Encyclopedic food microbiology. Edited by R.K Robinson, C.A. Batt et P.D Patel. London: Academic press.
- Zisu, B., Shah, N.P., (2003).** Effect of pH, temperature, supplement with whey protein concentrate and adjunct cultures on the production of exopolysaccharides by *Streptococcus thermophilus* 1275. *Journal of Dairy Science*. 86, (11): 3405- 3415.
- Zotta T, Ricciardi A, Rossano R and Pareute E (2008).** Uréase production by *Streptococcus thermophilus*. *Food Microbiology*. (25), 113- 119.

# *Annexes*

**Annexe I****Matériels****1-Matériel lourd**

Tout le matériel lourd utilisé durant cette étude est présenté dans le tableau suivant:

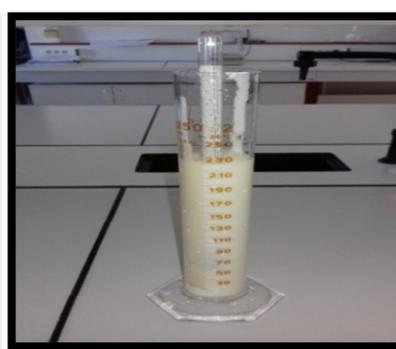
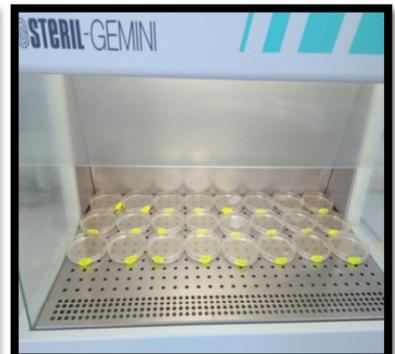
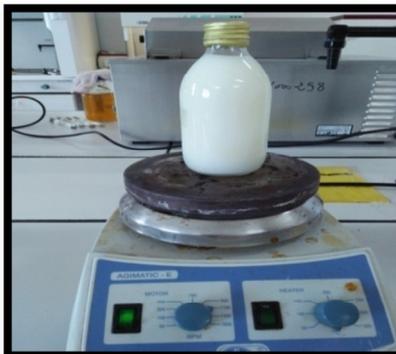
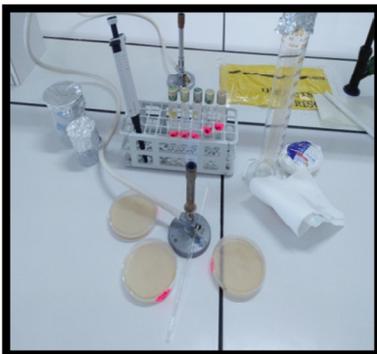
<b>Matériel</b>	<b>Référence</b>
<b>Hotte microbiologique</b>	STERIL-GEMINI (Italy)
<b>Etuves</b>	Memmert (Germany)
<b>Autoclave</b>	SANOCLAV LaM-3-20-ECZ-J
<b>Microscope optique</b>	OPTIKA B-350 (Italy)
<b>Hotte chimique</b>	EQUEIP LABO
<b>Bain marie</b>	Memmert (Germany)
<b>pH mètre</b>	Inolab pH 730 (Germany)
<b>Distillateur</b>	BuchI Distillation Unit K-350 (Switzer land)
<b>Réfrigérateur / Congélateur</b>	Samsung®, Algérie
<b>Vortex</b>	Fisher Scientific FB 15024
<b>Agitateur magnétique plaque chauffante</b>	AGIMATIC-E
<b>Bec Bunsen électrique</b>	INTEGRA Biosciences®, model FIREBOY eco, becBunsens
<b>Compteur de colonies</b>	J.P.SELECTA,s.a (Spain)
<b>Autoclave</b>	SANOCLAV LaM-3-20-ECZ-J
<b>Balance de précision</b>	KERN ALS 220-4N (Germany)

<b>Four Pasteur</b>	memmert type UNB400 Germany
<b>Conductimètre</b>	Tertracon®325 (Allemagne)
<b>API<sub>20E</sub>: pour <i>Samonella, Escherichia</i> API<sub>20E</sub>: pour <i>Pseudomonas</i></b>	Biomérieux

## 2-Matériel léger et accessoires

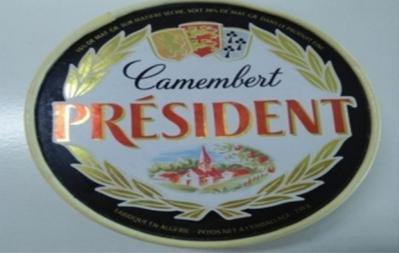
Les accessoires, matériel léger, produits chimiques et réactifs utilisés sont présentés dans le tableau suivant:

<b>Accessoires</b>	<b>Verrerie</b>	<b>Solvants</b>	<b>Colorants et réactifs</b>	<b>Sels et tampons</b>
Anses de platine, Barreau magnétique, Boîtes de Pétri, Cuillère, Distributeur, Micropipette, Papier Josef, Papier aluminium, Papier buvard, Ciseau, Pince, Pissette, Poires. Portoir, Rubans de parafilm, Scotch, Spatules.	Béchers, Burette Entonnoirs, Eprouvette graduées, Erlenmeyers, Fioles Jaugé, Flacons, Lames/lamelles, Pipettes graduées, Pipettes Pasteur, Tubes à essai,	Alcools (éthanol à 95°), Glycérol, Tween 80	Fushine, Huile à émersion, Lugol, Phénolphtaléine,, Violet de Gentiane,	NaCl, NaOH, KOH, Hcl.



## 3- Matériel biologique

Les différents marques du Camembert commercialisé.

Marque		Poids
1. LE TIGRE DE MIZRANA		120g
2. PETIT MILEV		125g
3. LE ZACCAR		250g
4. LION BLANC		160g
5. SIDI Saada		250g
6. PRESIDENT		250g

**Annexe II****Milieux de culture**

Illustratif de composition de différents milieux de culture.

<b>Milieu de culture</b>	<b>Composition</b>	<b>pH</b>
<b>Milieux solides</b>		
<b>Gélose MRS</b>	Polypeptone.....10g	<b>5.7 ± 0.1</b>
	Extrait de viande.....10g	
	Extrait de levure.....05g	
	Glucose.....20g	
	Tween 80 .....1,08ml	
	Phosphate bipotassique.....02g	
	Acétate de sodium trihydraté.....05g	
	Citrate d'ammonium.....02g	
	Sulfate de magnésium.....0,05g	
	Agar.....15,00g	
<b>Gélose M17</b>	Tryptone.....02,5g	<b>6.2 ± 0.2</b>
	Peptone pepsique de viande.....02,5 g	
	Peptone papaïnique de soja.....5,0 g	
	Extrait autolytique de levure.....2,5 g	
	Extrait de viande.....5,0g	
	Lactose.....5,0 g	
	Glycérophosphate de sodium.....19,0 g	
	Sulfate de magnésium.....0,25 g	
	Acide ascorbique.....0,50g	
	Agar.....15,0g	
<b>Mueller Hinton(MH)</b>	Hydrolysate acide de caséine.....17,5g	<b>7.3</b>
	Extrait de viande.....03g	
	Amidon.....1.5g	
	Agar .....16g	
<b>Gélose VRBG</b>	Extrait de levures.....5g	<b>pH = 7.4</b>
	peptone..... 7g	
	sels biliaires.....1.5g	

	Glucose.....10g Chlorure de sodium... ..5g Rouge neutre.....30mg Cristal violet.....2mg Agar.....18g	
<b>Gélose Sabouraud</b>	Peptone..... 10g Glucose.....20g Gélose.....20g	<b>pH =5,6</b>
<b>ChapmanStone</b>	Tryptone.....05g Extrait de viande.....01g Extrait de levure .....03g Peptone .....10g Mannitol.....10g Rouge de phénol .....0,05g Gélose .....11 à 18g	<b>pH 7,4 ± 0,1</b>
<b>Gélose PCA</b>	Tryptone.....5g Extrait de levures .....2.5g Glucose.....1g Agar.....15g	<b>pH = 7.0</b>
<b>Gélose viande foie (VF)</b>	Peptone viande-foie .....30,0g Glucose.....02,0g Amidon soluble.....02,0g Sulfite de sodium.....02,5g Citrate de ferammoniacal.....0,5 Agar.....11,0g	<b>pH 7,6 ± 0,2</b>
<b>SB</b>	Tryptone.....20,0g Extrait autolytique de levure.....5,0(g/l) Glucose.....2.0g Phosphate dipotassique.....4,0g Azide de sodium.....0,4g Chlorure de 2, 3, 5 triphényltétrazolium.....0,1g Agar agar bactériologique.....10,0g	<b>7,2±0,2</b>

<b>BEA</b>	Tryptone.....	17,00g	7,1±0,2
	Peptone pepsique de viande.....	3,00g	
	Extrait autolytique de levure.....	5,00g	
	Bile de bœuf bactériologique.....	10,00g	
	Chlorure de sodium... ..	5,00g	
	Esculine.....	1,00g	
	Citrate ferrique ammoniacal.....	0,50g	
	Azide de sodium.....	1,15g	
Agar agar bactériologique.....	13,00g		
<b>cetrimide</b>	Peptone pancréatique de gélatine.....	20,0g	7,2±0,2
	Cétrimide.....	0,3g	
	Chlorure de magnésium.....	1,4g	
	Sulfite de potassium.....	10,0g	
	Agar agar bactériologique.....	13,6g	
	Glycérol.....	10,0mL	
<b>Hektoen</b>	Peptone pepsique de viande.....	12,0g	7,6±0,2
	Extrait autolytique de levure.....	3,0g	
	Lactose.....	12,0 g	
	Saccharose.....	12,0g	
	Salicine.....	2,0g	
	Sels biliaires.....	9,0g	
	Chlorure de sodium... ..	5,0g	
	Triosulfate de sodium... ..	5,0g	
	Citrate ferrique ammoniacal.....	1,5g	
	Bleu de bromothymol.....	65mg	
	Fuchsine acide.....	40mg	
Agar agar bactériologique.....	13,5g		
<b>Milieus liquides</b>			
<b>Bouillon MRS</b>	Dextrose.....	20g	<b>6.2</b>
	Peptone bactériologies.....	10g	
	Extrait de bœuf.....	8g	
	Acétate de sodium.....	5g	
	Extrait de levure.....	4g	

	Phosphate di potassique.....2g Citrate d'ammonium.....2g Tween 80.....1ml Sulfate de magnésium.....0.2g Sulfate de manganèse.....0.05g Saccharose.....5g	
<b>Bouillon M17</b>	Tryptone.....2.5g Peptone pepsique de viande.....2.5g Peptone papainique de soja.....5.0g Extrait de viande.....5.0g Extrait autolytique de levure.....2.5g Acideascorbique.....0.5g Glycérophosphate de sodium.....19g Sulfate de magnésium.....0.25g	7
<b>Eau physiologique</b>	Chlorure de sodium.....9g Eau distillée.....1000ml	ND
<b>Eau peptonnée</b>	Sodium Glycérophosphate.....19.0g Peptone de soja.....5.0g Extrait de viande.....5.0g Lactose.....5.0g Peptone de viande.....2.5g Peptone de caséine.....2.5g Extrait de levure.....2.5g Acide ascorbique.....0.5g Sulfate de magnésium.....0.25g Agar bactériologique.....12.75g	ND
<b>Bouillon nutritif</b>	Extrait de levure.....04g Tryptone.....05g Glucose.....50.0g Dihydrogénophosphate de potassium.....0.55g Chlorure de potassium.....0.425g Chlorure de calcium.....0.125g	5,5 ± 0,2

	Sulfate de magnésium.....0.125g Chlorure ferrique.....0.0025g Sulfate de manganèse.....0.0025g Vert de bromocrésol.....0.022g	
<b>Bouillon de base Salmonella</b>	Peptone.....5,0g Lactose.....4,0g Phosphate de soduim.....10,0g	7,1±0,2
<b>Bouillon Giolitti et Cantoni</b>	Peptone de caséine.....10(g/l) Extraitdeviande .....5(g/l) Extrait de levure.....5(g/l) Pyruvate de sodium.....3(g/l) Chlorure de sodium.....5(g/l)	6,9±0,1

ND: Non Déterminé

## Annexe III

### 1. Caractérisation des isolats lactiques thermophiles

#### 1.1. Macroscopique

La première clé de la caractérisation est l'observation des colonies à l'œil nu qui permet de décrire les caractères cultureux de ces dernières sur les milieux solides (couleur, disposition, aspect, formes, surface, consistance, la taille et l'odeur).

#### 1.2. Microscopique

##### ❖ Préparation du frottis

A partir d'un bouillon : Mettre 2 gouttes de suspension bactérienne préalablement émulsionnée au centre d'une lame. Étaler en couche mince au centre de la lame. Faire sécher complètement sur plaque chauffante et fixer à la flamme 3 fois.

A partir d'une gélose : Mettre une goutte d'eau distillée à l'aide d'un fil bouclé au centre d'une lame. Avec un fil droit prendre une petite partie d'une colonie isolée, la déposer à côté de la goutte pour la visualiser et la mélanger avec l'eau. Faire sécher complètement sur plaque chauffante et fixer à la flamme 3 fois.

##### ❖ Coloration de Gram

###### But

Permet de distinguer les bactéries Gram + et Gram – en fonction de la teneur en lipides de la paroi.

###### Principe

Basé sur la composition chimique de la paroi des bactéries. Le Gram différencie les bactéries selon qu'elles aient conservé le cristal violet après le traitement à l'alcool ou non.

###### Technique de coloration

**1- Colorant:** Cristal violet de gentiane 30 sec et rincer à l'eau.

**2- Fixateur:** Lugol 30 sec et rincer à l'eau.

**3- Décolorant :** Alcool (compter 1-2-3 si fait à partir d'un bouillon et 1-2-3-4-5 si fait à partir d'une gélose) en inclinant la lame et rincer immédiatement.

**ATTENTION:** étape importante.

**4- Contre-colorant :** Fuschine 30 sec et rincer à l'eau.

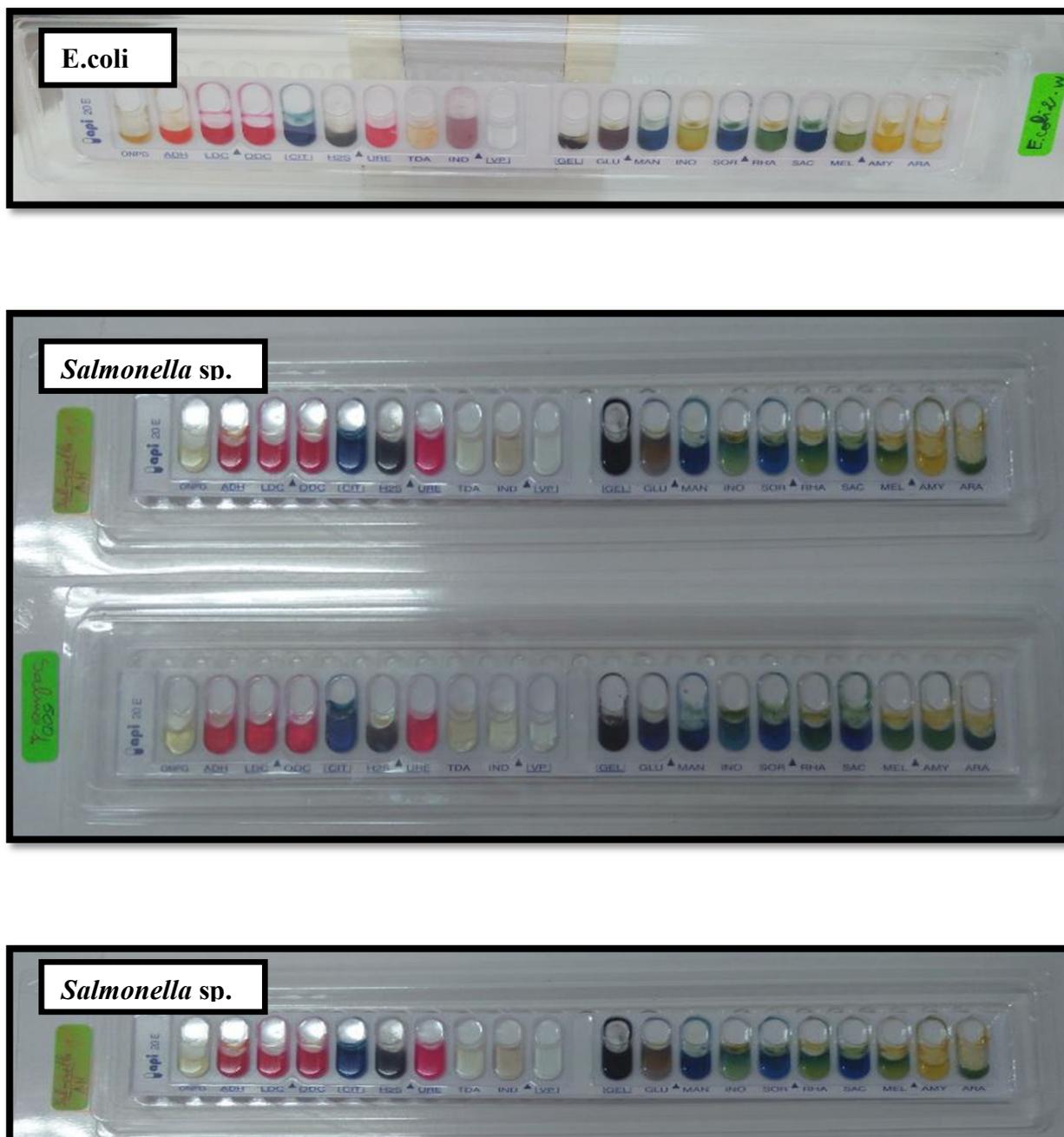
5- Sécher la lame avec du papier absorbant.

**Lecture :** à l'immersion : 100x

Gram **positif** (+) : violet

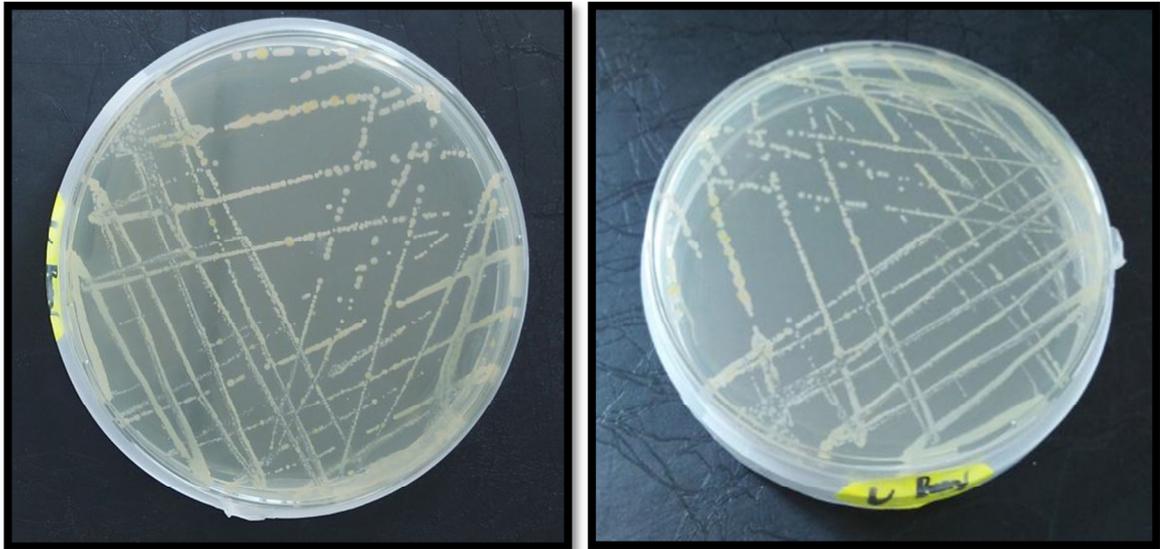
Gram **négatif** (-) : rose

## Annexe IV



**Figure 1:** Aspects macroscopiques des microgalleries API 20 E, après 24H d'incubation à 37°C: Lecture et identification par logiciel API WEB

Annexe IV

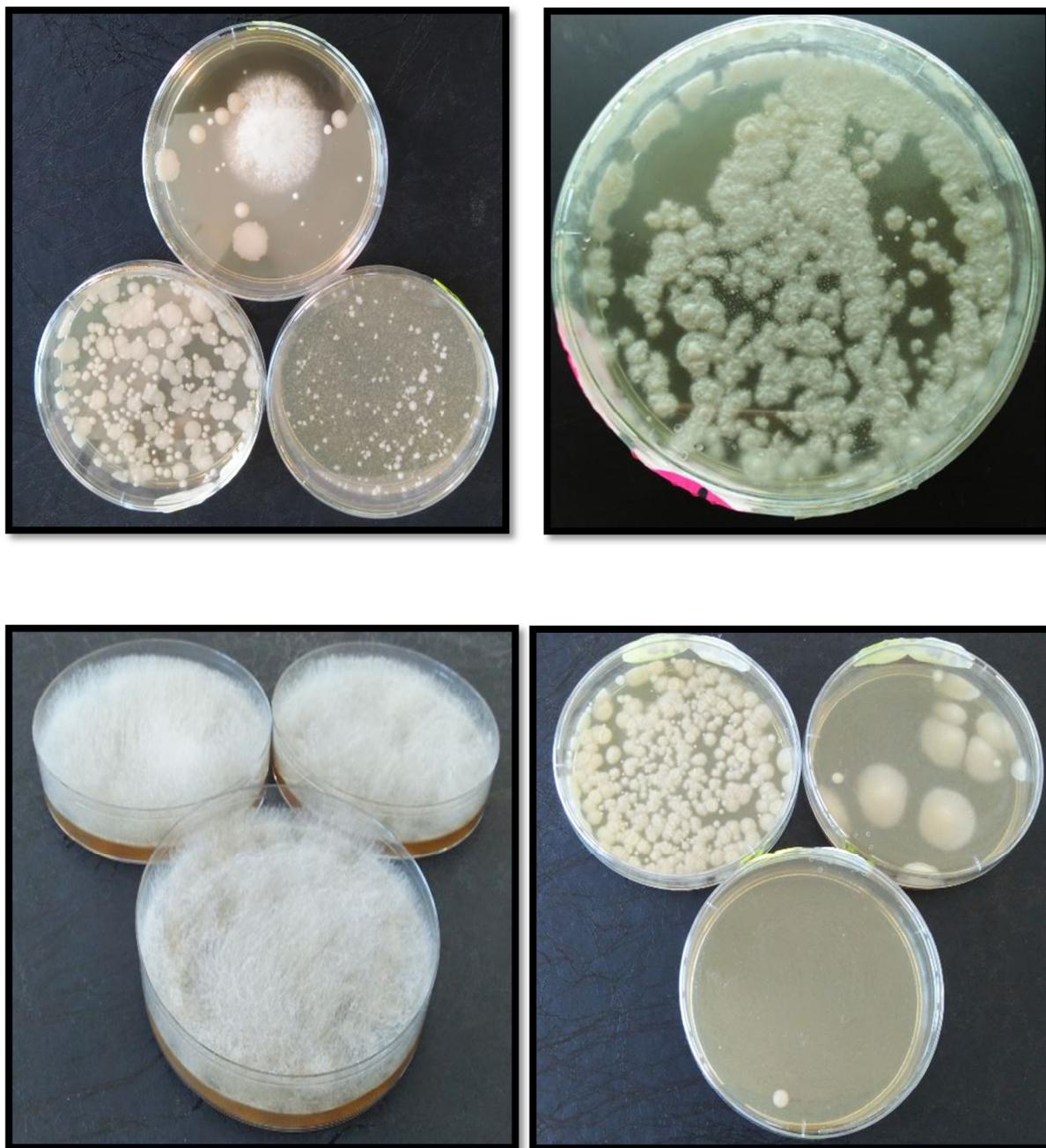


**Figure 2:** Aspects macroscopiques des isolats *Pseudomonas aeruginosa* sur gélose Cétrimidé, après plusieurs séries de purification par stries.

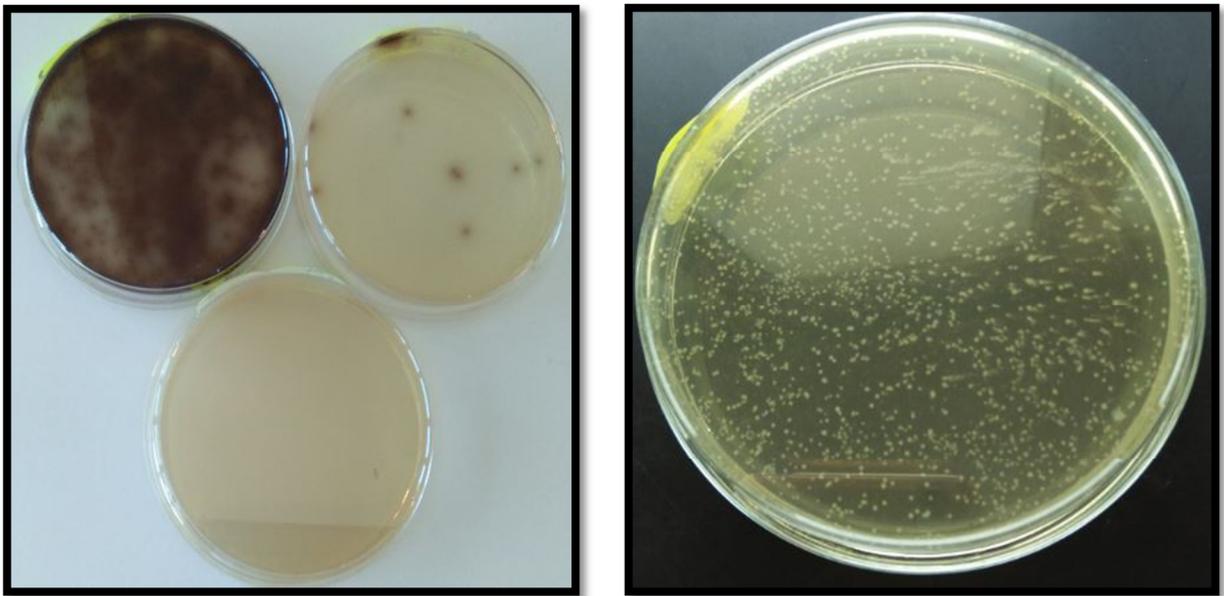


**Figure 3:** Aspects macroscopiques des isolats *Staphylococcus* sp. sur gélose Chapman, après plusieurs séries de purification par stries.

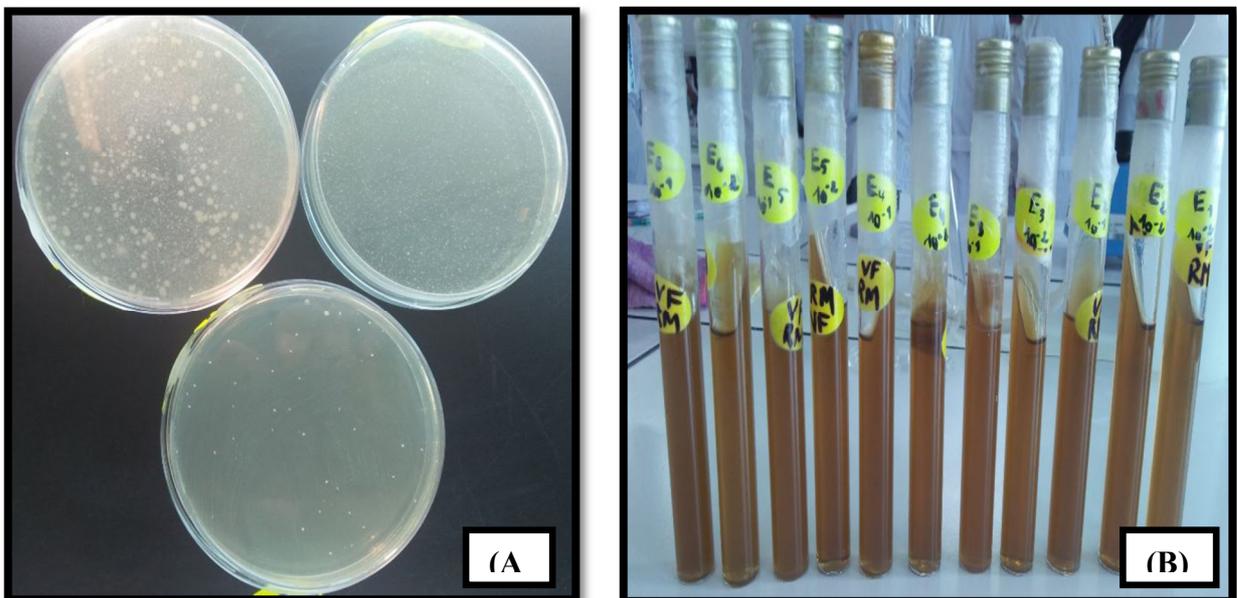
Annexe V



**Figure 4:** Aspect représentatif des levures et moisissures sur le milieu gélosé sabouraud

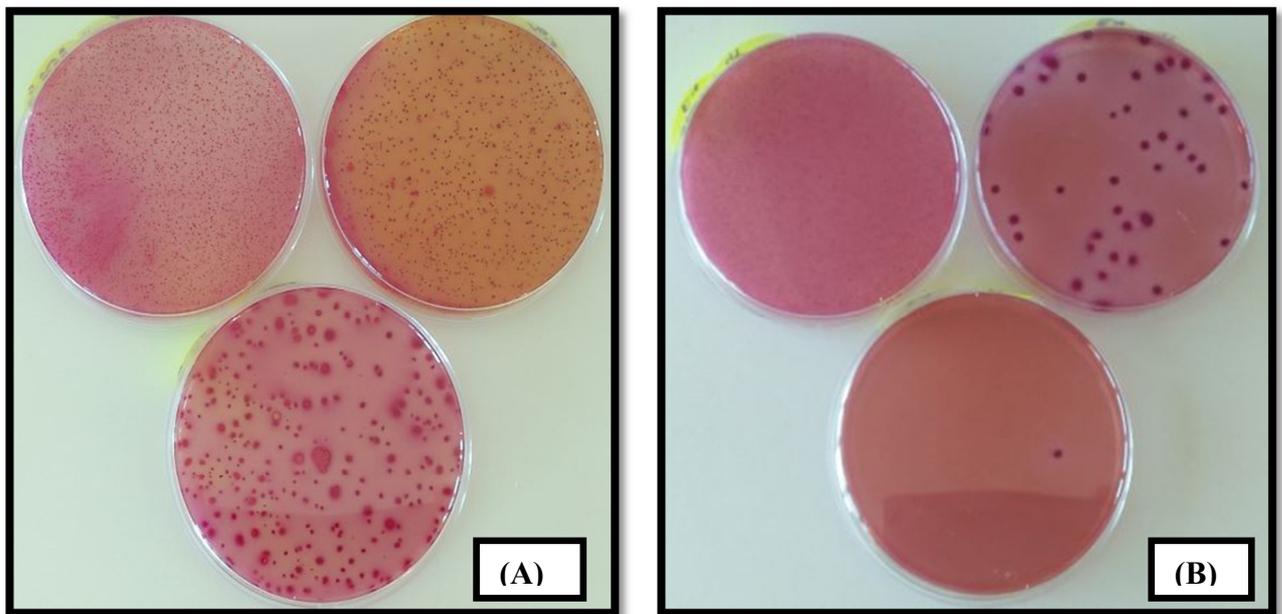


**Figure 5:** Aspect représentatif des Streptocoques fécaux sur les milieux gélosés BEA et SB

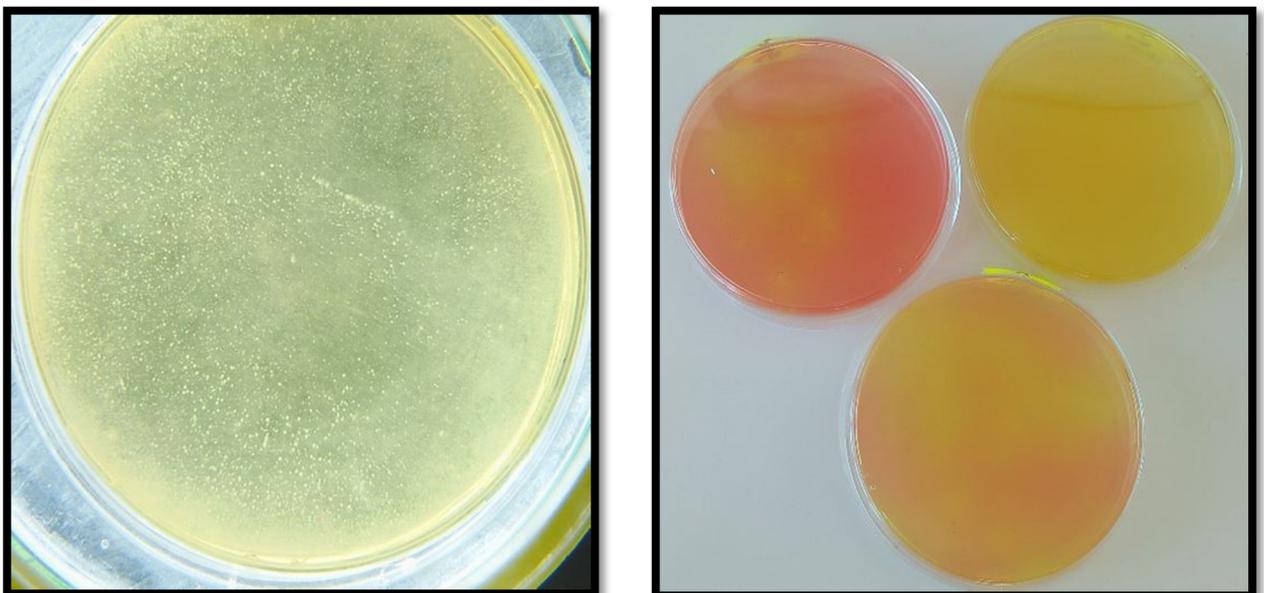


**Figure 6: (A)** Aspect macroscopique de la FTAM sur le milieu PCA.

**(B)** Aspect du milieu VF après 72h d'incubation.



**Figure 7:** Aspect macroscopique des coliformes totaux (A) et fécaux (B) sur le milieu gélosé VRBG.



**Figure 8:** Aspect représentatif des *Staphylococcus* sp. sur le milieu Chapman.