

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2018

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biotechnologie microbienne

Présenté par :

HADDAD Susan & BOUKRIF Sonia

Thème

*Etude de l'évolution de la flore microbienne d'un fromage à
pâte molle type Camembert fabriqué à partir du lait cru au
cours de son affinage.*

Soutenu le : 30 / 06 / 2018

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Mme AIT MIMOUNE Nouara</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>Mme MESSAD Sara</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promoteur</i>
<i>Mme BENBARA Tassadit</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examineur</i>

Année Universitaire : 2017/2018

Remerciements

Nos remerciements s'adressent en premier lieu à l'éternel Dieu tout Puissant pour la patience et la santé qui nous ont été indispensables au long de notre parcours et à nos chers parents sans qui rien n'aurait été possible.

Nous tenons à remercier profondément le membre de jury **Mme BENBARRA Tassadit**, examinatrice, **Mme AIT MIMOUNE Nouara**, présidente d'avoir accepté de critiquer et d'améliorer ce travail.

Nous avons l'honneur et le plaisir de présenter notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à notre promotrice **Mme MESSAD Sara** pour son aide précieuse, ses orientations, ses conseils éclairés et le temps qu'elle a accordé pour notre encadrement.

Nous adressons nos vifs remerciements à **Mr ZEGGAN**, gérant de la laiterie de vallée de nous avoir accueilli au sein de son entreprise, de nous ouvert ses portes et donné l'opportunité de réaliser ce stage.

Nos vifs remerciements s'adressent au personnel du laboratoire de la microbiologie de la laiterie de la vallée et ceux de laboratoire de physico-chimie pour leur patience et leurs aides précieuses, pendant la réalisation de ce travail en particulier à **Mr « SAID »** responsable de l'unité de fabrication du camembert, nous vous remercions d'avoir enrichie nos connaissances et de nous avoir guidé durant toute la période de stage.

Ensuite nous souhaitons remercier vivement tous le personnel de la laiterie pour leur aide et leur patience.

Nous remercions également **Mr DAHMOUNE Farid**, chef du département de biologie et tous les enseignants du département pour tout le savoir qu'ils nous ont donné durant notre cursus universitaire.

Nous tenons à remercier également tous ceux qui ont contribué de Près ou de loin à la réalisation de ce travail.



& Merci &



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail en signe de respect et de

Reconnaissance à :

*A mes chers parents pour leurs sacrifices, leurs soutiens moral et
financier et affectif tout au long de mon parcours*

Merci Papa et Maman « j'espère que vous êtes fiers de moi »

je vous aime beaucoup.

A Mon très cher frère Samir et sa femme Tina ;

A Mes chères sœurs Farida, Mizagène et la petite Tinhinane ;

A Brahim mon très cher ami

*A toute ma famille paternelle et maternelle oncles et tantes, cousins et
cousines, Farid tout spécialement;*

A Ma camarade Sonia et toute sa famille;

*Tous mes amis (es), et à toute la promotion 2017-2018 de Biotechnologie
microbienne ;*

A Tous ceux qui m'ont soutenu de près ou de loin ;

A toute personne qui connaît Susan.



Dédicaces



*Je voudrais remercies tous d'abord, Dieu tout clément et miséricordieux pour être mon meilleure confident et pour me permettre de réaliser mes rêves
merci pour me guider et être toujours avec moi*

Je dédie ce mémoire

A l'être le plus cher a mon cœur, a celle qui m'a guidée pour faire mes premiers pas et qui m'a appris mon premier mot, a celle qui m'a donné la vie, qui c'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, à ma mère le symbole de tendresse, Que dieu la garde et la protège .

A mon père, école de mon enfance, qui a été mon ombre durant toutes mes années d'études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager ; a me donner de l'aide et a me protéger, A qui je voue tous mes sentiments que son âme repose en paix.

A mon très cher fiancé Mohamed pour son encouragement et sa patience, ces sacrifices, son soutien, sa gentillesse sans égal, son profond attachement m'ont permis de réussir mes études, et à toute ma belle famille.

A Ma chère sœur sofia en témoignage, de l'amour et de l'affection que je porte pour toi et qui m'ont été un grand secours au long de ma vie professionnelle et personnelle, et à son fiancé.

A mes très chères frères daou et massinissa , que ce travail soit pour eux un exemple de persévérance dans la vie.

A mes cousins et cousines (lisa , nana aldjia, mina, sara et lara)

A toute ma famille paternelle et maternelle

A ma camarade susan pour sa patience et son soutien moral durant toute notre année universitaire et à sa famille

*A mes amis (es) en particulier (lahna) et mes camarades de la promotion Master 2 (biotechnologie microbienne)
Et à toute personne qui me connaît.*



Sonia





Liste des Abréviations

Abréviation	Signification
AFNOR	Association Française de Normalisation
Aw	Activity of water.(activité de l'eau).
CT	Coliforme Totaux.
CF	Coliforme Fécaux.
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nation
FTAM	Flore Totale Aérobie Mésophile.
J	jour
J.O.R.A	Journal Officiel de la République Algérienne.
KD	Kilo dalton
L	Litre
met	Méthionine
ml	millilitre
NaCl	chlorure de sodium
P	<i>Penicillium</i>
PCA	Plate Count Agar.
phe	Phényle alanine
PH	Power of hydrogen: potentiel hydrogène
S. aureus	<i>Staphylococcus aureus</i>
T°	Température
t	Tonne
°D	Degré Dornic
DLC	Désoxycholate
UFC	Unité Formant Colonie.
°C	Degré Celsius

Liste des figures

Numéro de la figure	Titre de la figure	Page
Figure n°1	la structure de Alpha-caséine	4
Figure n°2	la structure de Béta-caséine	5
Figure n°3	transformations biochimiques ayant lieu dans un fromage au cours de l'affinage.	16
Figure n°4	modèle d'un fromage à pâte molle à croûte lavée	18
Figure n°5	modèle d'un fromage à pâte molle à croûte fleurie.	19
Figure n°6	coagulation du lait après emprésurage	28
Figure n°7	Les différentes étapes de fabrication du camembert : A/ tranchage, B/ brassage, C/dé lactosage	29
Figure n°8	le moulage du camembert	29
Figure n°9	le saumurage du camembert	30
Figure n°10	l'affinage en hâloir	30
Figure n°11	L'échantillon du lait (Solution mère)	31
Figure n°12	la recherche de la flore aérobique mésophile totale sur milieu PCA	31
Figure n°13	la recherche des coliformes totaux	32
Figure n°14	la recherche des coliformes fécaux sur milieu désoxycholate (solidification sur paille)	33
Figure n°15	colonies blanches et lenticulaires des FTAM après 72 h d'incubation à 30°C.	34
Figure n°16	les colonies rouge cerise des coliformes fécaux (A) et des coliformes totaux (B) après incubation (24 h) à 44°C et à 30°C respectivement.	35
Figure n°17	<i>Staphylococcus aureus</i> sur milieu Chapman après 24 h d'incubation à 37°C (résultat négatif).	36
Figure n°18	Diagramme de fabrication du camembert	37
Figure n°19	Evolution de la population en germes totaux en	40

	fonction des températures de stockage du lait après la traite	
Figure n°20	Résultats d'analyse microbiologique du lait cru	42
Figure n°21	Evolution des quatre groupes microbienne au cours d'affinage d'un camembert fabriqué au lait cru	43
Figure n°22	Pouvoir acidifiant des souches lactiques :évolution du pH et de l'acidité en °Dornique après 24h d'incubation	47

Liste des tableaux

Numéro des tableaux	Titre des tableaux	page
Tableau n°1	Composition moyenne du lait entier .	3
Tableau n°2	La flore originelle du lait cru.	6
Tableau n° 3	Germes contaminant le lait cru .	6
Tableau n°4	La Composition moyenne des différents types de fromages pour 100 g .	9
Tableau N°5	les principales bactéries intervenant durant l'affinage des fromages et leurs fonctionnalités .	11
Tableau n°6	Les différents types des fromages et leurs caractéristiques .	14
Tableau n°7	Composition moyenne de fromage à pâte molle type Camembert.	19
Tableau n°8	Liste de matériel et le produit fini	24
Tableau n°9	Principales analyses physicochimique préliminaire du lait cru .	26
Tableau n°10	Normes microbiologique du camembert selon le journal officiel algérien 1998.	36
Tableau n°11	Résultats des analyses microbiologiques du lait cru exprimés en nombre de germes /ml.	38
Tableau n°12	Résultats des analyses microbiologiques du camembert fabriqué à partir du lait cru exprimés en UFC/ml.	43

SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....01

Chapitre I Synthèse bibliographique

I. Le lait cru.....02

I.1. Définition.....02

I.2. Principales propriétés physico-chimiques du lait.....02

I.2.1. La densité02

I.2.2 L'acidité de titration ou acidité Dornic02

I.2.3 Le point de congélation02

I.2.4 Le pH02

I.3. Composition du lait.....03

I.3.1 Eau.....03

I.3.2 Matière grasse.....03

I.3.3 Vitamines.....03

I.3.4 Minéraux.....04

I.3.5 Lactose.....04

I.3.6 Matière azotée.....04

I.3.6.1 Alpha-caséines ou caséines α_1 36 % et α_2 10 %04

I.3.6.2 Bêta-caséine ou caséine β 34 %04

I.3.6.3 Enzymes du lait05

I.4. Propriétés microbiologiques.....05

I.4.1 Flore originelle.....05

I.4.2 Flore de contamination06

I.5 Principales activités microbiennes néfastes dans le lait07

I.5.1 Fermentation homolactique et hétéro lactique avec acidification

du lait07

I.5.2 Protéolyse08

I.5.3 Lipolyse08

I.6 Dérivés du lait.....08

II. Le fromage.....08

II.1 Définition08

II.2	Composition du fromage.....	08
II.3	La microflore du fromage	09
II.3.1	Origine des microorganismes.....	09
II.3.1.1	Microflore indigènes ou originelles	09
II.3.1.2	Apport accidentel lors de la transformation de matière brute.....	10
II.3.1.3	Addition volontaire.....	10
II.3.2	Les Microflore utiles et leurs rôles.....	10
II.3.2.1	Les bactéries lactiques.....	10
II.3.2.2	Les microflore d'affinage ou microflore de surface.....	11
II.3.3	Les Microflore pathogènes et leurs rôles	12
II.3.3.1	Les Coliformes.....	11
II.3.3.2	Les <i>Pseudomonas</i>	12
II.3.3.3	Les staphylocoques	12
II.4	Technologie du fromage.....	13
II.4.1	Traitements thermiques.....	13
II.4.2	Coagulation du lait.....	13
II.4.3	Egouttage.....	15
II.4.4	Saumurage	15
II.4.4	Affinage des fromages.....	15
II.4.4.1	Les mécanismes de l'affinage.....	16
II.4.4.2	Modalités de l'affinage.....	16
III.	Fromage à pâte molle.....	16
III.1	Fromage de pâte molle à croûte lavée.....	18
III.2	Fromage de pâte molle à croûte fleurie type camembert	18
III.2.1.	Définition	19
III.2.2	Composition physico-chimique de Camembert	19
III.2.3	Microbiologie du camembert.....	20
III.2.3.1	Flore d'affinage	20
III.2.3.2	Flore de Contamination.....	21
III.2.3.3	Flore pathogène.....	22

Chapitre II Matériel et Méthodes

I. Objectif de travail.....	23
II. Présentation de lieu de stage.	23
II.1 Historique de l'unité.....	23
II.2 Missions de l'unité	23
III. Matériel et méthodes.....	24
III.1 Matériel.....	24
III.1.1 Matériel utilisé pour les analyses bactériologiques	24
III.1.2 Matériel utilisé au cours de la fabrication.....	25
III.2 Méthodes.....	25
III.2.1 Echantillonnage.....	25
III.2.2 Processus de fabrication du camembert	26
III.2.2.1 Trajet du lait destiné à la fabrication fromagère	26
III.2.2.2 Les étapes de fabrication du camembert.....	26
III.2.3 Analyses microbiologiques	30
III.2.3.1 Analyse microbiologiques de la matière première « lait cru »	31
III.2.3.2 Analyses microbiologiques du produit fini	33
III.2.3.3 Préparation de la solution mère et des dilutions décimales.....	33
III.2.3.1 Le dénombrement de la flore microbienne recherchée.....	34

Chapitre III : Résultats et discussion

I. Les analyses microbiologiques.....	38
I.1. Les analyses bactériologiques de la matière première « Lait cru »	38
I.1.1. La flore totale aérobie mésophile « FTAM ».....	39
I.1.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	40

I.1.3. Les Coliformes fécaux.....	41
I.1.4. Les coliformes totaux.....	41
I.2. Les analyses bactériologiques du camembert.....	42
I.2.1. Les Staphylocoques	44
I.2.2. Les Coliformes.....	44
I.2.3 La flore totale aérobie mésophile « FTAM »	50
Conclusion.....	51
Références bibliographiques	
Annexes	

Introduction

Introduction

L'Algérie est le premier consommateur de lait au Maghreb, avec près de 3 milliards de litres par an [1-2]. Et se place ainsi au troisième rang mondial en matière d'importation du lait et produits laitiers, après l'Italie et le Mexique [3].

En revanche les importations pour ce produit (lait en poudre, crèmes de lait et matières grasses laitières utilisées comme intrants) ont reculé pour s'établir à 358.943 (t) (en 2016) contre 372.126 (t) (en 2015), soit une réduction de près de 3,54%, indique le Centre national de l'informatique et des statistiques des douanes (Cnis). Cette réduction est grâce aux mesures qui ont été prises par le gouvernement en faveur des éleveurs et des opérateurs de ce secteur en augmentant la subvention du lait cru et en encourageant l'investissement [4].

Cet aliment occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens, puisqu'il apporte la plus grande part des protéines d'origine animale [5-6].

Son utilisation comme matière première dans la fabrication de nombreux produits dérivés du lait tel que le fromage est tributaire de sa qualité (physique, chimique et hygiénique), souvent instable et douteuse [7].

Bien que les microorganismes soient le principal facteur de dégradation du lait, ils sont historiquement utilisés pour sa transformation et sa conservation. La fermentation des produits alimentaires comme le lait est employée depuis l'antiquité en Afrique, Asie et Europe, les premiers laits fermentés étant apparus au Moyen Orient aux alentours du XV et XI^{ème} millénaire. Ainsi, la flore microbienne du lait a très tôt été sollicitée pour ses aptitudes acidifiantes et son implication dans la formation du goût, des arômes et de la texture de nombreux produits laitiers, dont les fromages [8].

La fabrication d'un fromage type camembert implique l'utilisation seulement d'un microbiote endogène apporté par le lait ou complété par un exogène apporté par le fromager, avec des propriétés biochimiques très ciblées permettant la production de composés sapides et aromatiques en équilibre contrôlé responsable de la flaveur (odeur, arôme et saveur) des fromages [9] [10] [11].

Notre objectif à travers cette étude c'est :

- Quantifier la microflore bactérienne des échantillons de fromage à pâte molle type camembert après saumurage.
- Mettre en évidence l'évolution de cette microflore au cours d'affinage.

Chapitre I
Synthèse
Bibliographique

I. Lait cru

I.1. Définition

Le lait a été défini en 1908, au cours du Congrès International de la Répression des Fraudes à Genève comme étant :

« Le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de Colostrum » [12].

D'après la **FAO/OMS (2000)**, « Le lait est une sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou des plusieurs traites, destinées à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur ».

C'est un liquide de composition complexe, blanc et opaque, d'une saveur douce, d'une réaction ionique (pH) voisin de la neutralité [13].

Le lait cru est un lait qui n'a subi aucun traitement de conservation sauf la réfrigération à la ferme. La date limite de vente correspond au lendemain du jour de la traite.

Le lait cru doit être porté à l'ébullition avant consommation (car il contient des germes pathogènes). Il doit être conservé au réfrigérateur et consommé dans les 24h [14].

I.2. Principales propriétés physico-chimiques du lait

I.2.1. La densité

Elle oscille entre 1,028 et 1,034. Elle doit être supérieure ou égale à 1,028 à 20°C. La densité des laits de grand mélange des laiteries est de 1,032 à 20°C.

I.2.2 Acidité de titration ou acidité Dornic

L'acidité de titration indique le taux d'acide lactique formé à partir du lactose. Un lait frais a une acidité de titration de 16 à 18°D.

I.2.3 Point de congélation

Le point de congélation du lait est l'une de ses caractéristiques physiques les plus constantes. Sa valeur moyenne, si l'on considère des productions individuelles de vache, se situe entre -0,54 °C et - 0,55°C [15].

I.2.4 Le pH

Le pH renseigne précisément sur l'état de fraîcheur du lait. Un lait de vache frais a un pH de l'ordre de 6,7. S'il y a une action de bactéries lactiques, une partie du lactose du lait sera dégradée en acide lactique, ce qui entraîne une augmentation de la concentration du lait en ions hydronium (H_3O^+) et donc une diminution du pH, car :

$PH = \log 1 / [H_3O^+]$. [16]

I.3 Composition du lait

Les principaux constituants du lait sont l'eau, la matière grasse, les protéines et le lactose, outre les minéraux et des vitamines (**voir le tableau n°01**).

Tableau n°01 : Composition moyenne du lait entier [17].

Composants	Teneurs (g/100g)
Eau	89.5
Dérivés azotés	3.44
Protéines	3.27
Matières grasses	3.5
Glucides	4.8
Lactose	4.7
Gaz dissous	5% du volume du lait

I.3.1 Eau

C'est le composé le plus abondant, il se trouve sous deux états :

- L'eau extra micellaire représente environ 90% de l'eau totale.
- L'eau intra micellaire représente environ 10 % de l'eau totale [18].

I.3.2 Matière grasse

La matière grasse est présente dans le lait sous forme de globules gras de diamètre de 0.1 à 10µm et est essentiellement constitué de triglycérides (98%).

La matière grasse du lait de vache est constituée de 65% d'acides gras saturés et de 35% d'acides gras insaturés [19].

I.3.3 Vitamines

Ce sont des molécules complexes de taille plus faible que les protéines, de structure très variée ayant un rapport étroit avec les enzymes, car elles jouent un rôle de coenzyme associée à une apoenzyme protéique. On classe les vitamines en deux grandes catégories :

- Les vitamines hydrosolubles (vitamines du groupe B et vitamine C) de la phase aqueuse du lait.
- Les vitamines liposolubles (vitamines A, D, E, et K) associées à la matière grasse, certaines sont au centre du globule gras et d'autres à sa périphérie [20].

I.3.4 Minéraux

Selon **Gaucheron (2004) [21]**, le lait contient des quantités importantes de différents minéraux. Les principaux minéraux sont calcium, magnésium, sodium et potassium pour les cations et phosphate, chlorure et citrate pour les anions. Ils représentent une quantité variant de 0.6% à 0.9% [22].

I.3.5 Lactose

Le lait contient des glucides essentiellement représentés par le lactose, constituant le plus abondant après l'eau. Sa molécule $C_{12}H_{22}O_{11}$, est constituée d'un résidu galactose uni à un résidu glucose [15].

I.3.6 Matière azotée

La matière azotée du lait englobe deux groupes, les protéines et les matières non protéiques qui représentent respectivement 95% et 5% de l'azote minéral du lait [23]. Les protéines se répartissent en deux phases : une phase micellaire et une phase soluble. La phase micellaire représente la caséine totale (environ 80% des protéines du lait) du lait. Elle est formée par quatre protéines individuelles:

I.3.6.1 Alpha-caséines ou caséines α_1 36 % et α_2 10 %

Cette protéine hétérogène est constituée de 207 acides aminés avec un poids moléculaire situé entre 24 et 30 KD, elle est fortement sensible au calcium à toute température et est la plus hydrophile de toutes les caséines vue sa richesse en groupements phosphorilés et en résidus cationiques. [24].

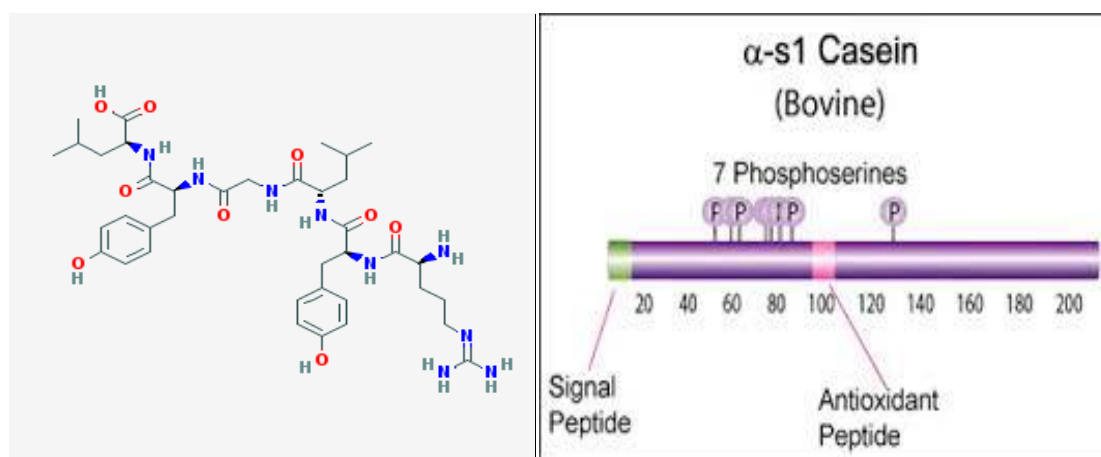


Figure n°2 : la structure de Alpha-caséine

I.3.6.2 Bêta-caséine ou caséine β 34 %

C'est une molécule constituée de 209 résidus d'acides aminés, pour une masse moléculaire de 24 KD. La caséine beta est la caséine la plus hydrophobe, ce qui augmente les probabilités d'obtenir des hydrolysats très amers (Bouquelet, 2016) [25].

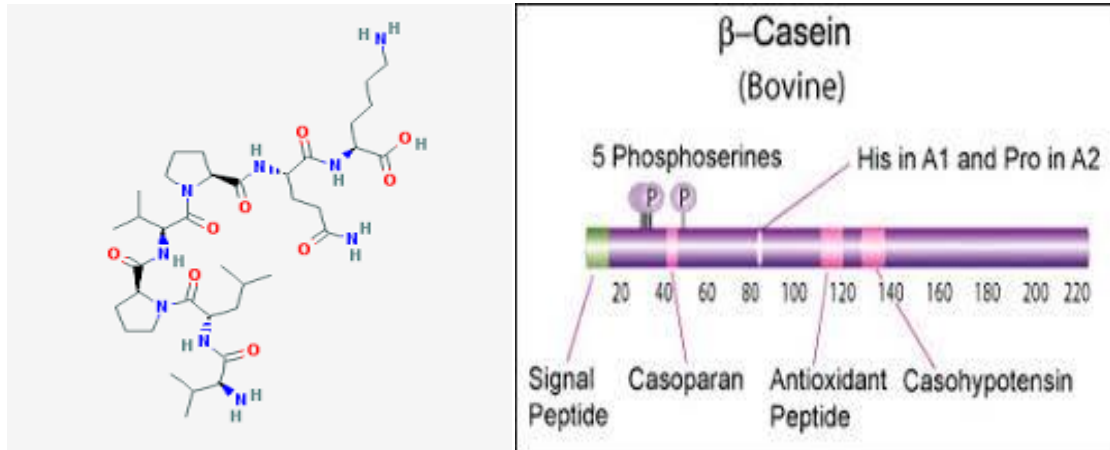


Figure n°2 : la structure de la Bêta-caséine

- Kappa-caséine ou caséine κ 13 % est la seule caséine ayant des résidus des glucides, qui en présence de phosphate de calcium forme des micelles de caséines stables (guetouache et *al.*, 2014). [26]

La caséine kappa possède deux régions qui sont séparés lors de l'hydrolyse du lien phe105-Met-106 par la chymosine : la partie N-terminal de nature hydrophobe, demeure attachée à la micelle et la partie C- terminal est le caséinomacropéptide, de nature hydrophile chargée négativement [27].

- Gamma-caséines ou caséine γ 7 % (produits de la protéolyse de la β -caséine) [28].

I.3.6.3 Enzymes du lait

Plus de 60 enzymes principales ont pu être isolées du lait ou dont l'activité a été déterminée.

Ces enzymes peuvent jouer un rôle très important en fonction de leurs propriétés :

- Lyses des constituants originels du lait ayant des conséquences importantes sur le plan technologique et sur les qualités organoleptiques du lait (lipases, protéases). Ainsi, on distingue des protéases originelles du lait ; la plasmine est le composant majoritaire (elle provient du sang et migre via la glande mammaire), et des protéases d'origine microbienne.
- Rôle antibactérien ; elles apportent une protection au lait (lactoperoxydase et lysozyme).

- Indicateurs de qualité hygiénique (certaines enzymes sont produites par des bactéries et des leucocytes), de traitement thermique (phosphatase alcaline, peroxydase, acétylsterase) [29].

I.4. Propriétés microbiologiques

Le lait contient un nombre variable de cellules ; celles-ci correspondent à la fois à des constituants normaux comme les globules blancs, mais également à des éléments d'origine exogène qui sont pour la plupart des microorganismes contaminants [30]. Le lait est un excellent substrat pour la croissance microbienne principalement, des bactéries mais aussi des levures et des moisissures, voire des virus.

I.4.1 Flore originelle

La flore originelle des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis (**tableau n°02**).

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 10^3 germes/ml). A sa sortie du pis et des canaux galactophores, il est pratiquement stérile et est protégé par des substances inhibitrices appelées lacténines à activité limitée dans le temps (une heure environ après la traite) [31].

D'autres microorganismes peuvent se trouver dans le lait lorsqu'il est issu d'un animal malade. Ils sont généralement pathogènes et dangereux au point de vue sanitaire [32].

Tableau n°02 : Flore originelle du lait cru [22].

Microorganisme	Pourcentage (%)
<i>Micrococcus sp.</i>	30-90
<i>Lactobacillus</i>	10-30
<i>Streptococcus ou Lactococcus</i>	<10
<i>Gram négatif</i>	<10

I.4.2 Flore de contamination

Cette flore est l'ensemble des microorganismes contaminant le lait, de la récolte jusqu'à la consommation (**tableau n°03**). Elle peut se composer d'une flore d'altération, qui

causera des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène dangereuse du point de vue sanitaire [22].

Ces contaminations par divers microorganismes peuvent provenir de :

- Fèces et téguments de l'animal : Coliformes, Entérocoques *Clostridium*, *Salmonella*.
- Sol: *Streptomyces*, *Listeria*, bactéries sporulés, spores fongiques...etc.
- Air et eau : Flores diverses, bactéries sporulés [33].

Tableau n°03 : Germes contaminant le lait cru [34].

Germes à Gram positif	Sources de contamination
Germes sporulés aérobies	Terre, poussière, foin (très répandu)
Germes sporulés anaérobies (clostridies)	Ensilage, fourrage vert en fermentation, boue
Entérocoques	Fèces, résidus du lait
Microcoques	Peau, muqueuses
Bactéries propioniques	Peau, résidus du lait, fourrage vert en fermentation, ensilage
Bactéries lactiques	Plantes, ensilages, résidus du lait muqueux
Bactéries corynéformes	Peau, sol
Entérobactéries	Plantes, fèces, eaux usées
Pseudomonas	Eau, sol (très répandu)
Alcaligenes, flavobacterium, etc.	Eau, sol (très répandu)
Levures	Sol, plantes, résidus de lait (très répandus)

I.5 Principales activités microbiennes néfastes dans le lait

Les altérations du lait sont associées à la multiplication de levures, moisissures et bactéries. Cependant et compte tenu de leurs caractères écologiques, les contaminations bactériennes sont les plus fréquentes et les plus importantes et leurs potentialités de développement sont les plus à craindre.

Ces processus de dégradation sont possibles, lorsque les conditions du milieu environnant sont favorables à la prolifération microbienne et à l'activité enzymatique. De graves défauts de goût et d'odeur peuvent apparaître par accumulation des produits issus, soit du métabolisme cellulaire, soit de l'action de systèmes enzymatiques complexes sur les

constituants du lait. Le plus fréquemment, il s'agit de lait acide, amer, fruité, rance, malté, à gout étranger [35].

I.5.1 Fermentation homolactique et hétérolactique avec acidification du lait

Un tel processus conduit à la coagulation de la caséine et à la prise en masse du lait. Selon la température du lait et les bactéries impliquées, le phénomène de coagulation sera plus ou moins rapide : de 10°C à 37°C, le germe le plus fréquemment impliqué est *Streptococcus lactis* avec plus rarement association des coliformes, entérocoques, microcoques et lactobacilles.

Après pasteurisation, l'acidification est produite par des germes thermotolérants ou sporulés ayant résisté comme *Clostridium* et *Bacillus*. Lorsque des bactéries lactiques hétérofermentaires interviennent, il y a en plus des acides organiques, de nombreux composés volatils variés (aldéhydes, cétones, alcools) [33].

Ces composés, lorsqu'ils sont élaborés en quantité limitée, sont parfois recherchés, car ils contribuent à former le bouquet caractéristique de beaucoup de produits laitiers ; mais lorsqu'ils sont présents à forte concentration, ils engendrent des mauvais goûts et odeurs [35].

I.5.2 Protéolyse

Au cours de leurs activités métaboliques, certains microorganismes, grâce à l'action de leurs protéases, dégradent des fractions protéiques du lait. Ce phénomène produit la libération de sous produits très variés, dont des peptides à longue ou courte chaîne à l'origine des goûts amers, des saveurs non désirées et atypiques ou des textures inadéquates des fromages contaminés. Les germes incriminés sont *Micrococcus*, *Alcaligenes*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas* ainsi que d'autres germes de la flore banale à Gram négatif [22-33].

I.5.3 Lipolyse

La lipolyse est une réaction enzymatique de dégradation de la matière grasse qui se traduit dans le lait par une augmentation de la teneur en acides gras libres. Au-delà de certains seuils, cette augmentation peut provoquer l'apparition de défauts de goûts (rance, savon...) dans les produits laitiers [36].

I.6 Dérivés du lait

Les produits laitiers sont généralement divisés en deux grands groupes : les laits de consommation (entiers, demi-écrémés, écrémés, aromatisés) et les produits laitiers élaborés (beurres, fromages, yaourts, crèmes glacées, ...).

Pour des fromages, chacun ayant ses spécificités. Ils varient par la nature du lait, par la teneur en matière grasse, par leur mode de préparation, par la consistance de leur pâte, et leur durée de conservation. [37].

II. Le fromage

II.1. Définition

Le fromage, selon le Codex alimentarius, est le produit affiné ou non affiné, de consistance molle ou semi dure, dure ou extra dure qui peut être enrobé, et dans lequel le rapport protéines de lactosérum/caséines ne dépasse pas celui du lait. On obtient le fromage par coagulation complète ou partielle du lait grâce à l'action de la présure ou d'autres agents coagulants appropriés et par égouttage partiel du lactosérum résultant de cette coagulation.

Le fromage est un aliment de haute valeur nutritive, composé de protéines, de lipides, d'eau et de sels minéraux, fabriqué à partir de lait de vache, de brebis ou de chèvre, auquel on a ajouté des ferments lactiques et/ou de la présure; il se consomme frais ou affiné. Il en existe de nombreuses variétés, qui se distinguent par la matière première (lait entier ou écrémé, petit-lait, autres ingrédients éventuels), le procédé de coagulation, la teneur en matière grasse, la texture (pâtes dure, mi-dure, molle), la méthode et la durée d'affinage [37].

II.2. Composition du fromage

Le fromage est très riche de part de sa composition, en protéines, eau, peptides bioactifs, acides aminés, lipides, acides gras, vitamines et minéraux [38]. (tableau n°04), illustre la composition moyenne des différents types de fromages.

Tableau n°04 : Composition moyenne des différents types de fromages pour 100 g [39]

Constituants	Fromage frais	Fromage à pâte molle	Fromage fondu
Eau (g)	80	50	48
Glucides (g)	4	4	2 ,5
Lipides (g)	7,5	24	22
Protéines (g)	8 ,5	20	18
Calcium (mg)	100	400	680
Sodium (mg)	40	700	1650
Vitamines A(UI)	170	1010	1200

II.3 Microflore du fromage

Les flores microbiennes présentes dans le lait et les produits laitiers sont très complexes. Ces microflore créent entre elles des phénomènes d'antagonisme.

II.3.1 Origine des microorganismes

Les microorganismes des aliments ont trois origines possibles :

- Ils préexistent dans la matière brute ou l'aliment avant toute manipulation ou transformation.
- Ils sont apportés accidentellement lors des manipulations ultérieures de l'aliment.
- Ils sont ajoutés volontairement [40].

II.3.1.1 Microflore indigènes ou originelles

Renferment l'ensemble des micro-organismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis, ces microorganismes dépendent de l'aliment, de la race, de l'état sanitaire de l'animal et l'environnement. Les genres dominants sont principalement des micro-organismes mésophiles (*Micrococcus* sp, *Lactobacillus*, *Streptococcus* ou *Lactococcus* et les bactéries à Gram négatif) [41].

II.3.1.2 Apport accidentel lors de la transformation de matière brute

La flore de la transformation de matière brute peut avoir plusieurs sources :

- Le matériel utilisé pour les transformations, ainsi que les eaux de lavage ne sont pas stériles. Ils apportent donc des microorganismes [40].
- Le personnel manipulant les aliments peut apporter lui aussi de nombreux microorganismes par l'intermédiaire de :
 - ✓ La peau souvent en contact direct avec les aliments.
 - ✓ La bouche (éternuements, crachats) mais aussi la classique dégustation des plats par les cuisiniers prélevant l'aliment avec le doigt.
 - ✓ Les vêtements [41].
- Le problème des porteurs sains ou personnes hébergeant comme commensaux des bactéries pathogènes ou potentiellement pathogènes, est beaucoup plus délicat.
- L'air peut aussi transmettre des microorganismes par l'intermédiaire de poussières par exemple [40].
- Les insectes comme les mouches, forment des vecteurs très dangereux de microorganismes.

II.3.1.3 Addition volontaire

Certains aliments, sontensemencés par des « ferments », le plus souvent des bactéries lactiques [40].

II.3.2 Microflore utiles et leurs rôles

II.3.2.1 Bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des bactéries à Gram positif produisant de l'acide lactique par fermentation des glucides simples tels que le glucose et le galactose [42].

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 (**tableau n°05**), par leurs aptitudes protéolytiques et lipolytiques (développement du goût, des arômes et de la texture) [43]. Ces bactéries lactiques sont principalement constituées de *Lactocoques*, *Leuconostoc*, *pédiocoques*, *streptocoques thermophiles*, *lactobacilles mésophiles* et *entérocoques* [44].

Tableau n°05: les principales bactéries intervenant durant l'affinage des fromages et leurs fonctionnalités [45].

Bactéries lactiques	Principales fonction
Lactocoques et streptocoques (<i>Lactococcus cremoris</i> , <i>L. lactis</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i>)	Acidification et contribution dans la protéolyse.
<i>Leuconstoc</i>	Ouverture de la pâte (production de gaz), acidification et production de composants d'arôme.
Lactobacille mésophile (<i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lb. plantarum</i> ...)	Production de composants d'arôme.
Entérocoques (<i>Enterococcus faecium</i> , <i>E. faecalis</i> ...)	Acidification, protéolyse et contribution à la lipolyse et coloration des croûtes.

II.3.2.2 Microflore d'affinage ou microflore de surface

Les principaux microorganismes jouant un rôle connu dans l'affinage sont les bactéries lactiques, les bactéries propioniques, les levures et les moisissures [46].

➤ **Bactéries**

Parmi les bactéries dominantes à la surface des fromages, on retrouve les bactéries à Gram positif, majoritairement, les groupes des staphylocoques et des corynebactéries. Leur importance relative dépend du type de fromage.

Elles produisent des enzymes. Les lipases et les protéinases hydrolysent les matières grasses et les protéines. Les peptidases hydrolysent les petits peptides et les acides aminés. [47].

➤ **Levures**

Kluyveromyces, *Geotrichum candidum*, *Debaryomyces*, *Candida*, *Yarrowia* ne sont qu'à l'intérieur. Elles interviennent dans la désacidification de la pâte en début d'affinage, permettant ainsi l'implantation ultérieure d'une flore acido-sensible comme les bactéries coryneformes, et interviennent également dans la formation du goût [40-48].

➤ **Moisissures**

Les moisissures ont un rôle très actif dans l'affinage de certains fromages comme les pâtes persillées et les pâtes molles, il existe deux types : [49].

- ✓ **Moisissures superficielles** : elles sont responsables du feutrage blanc des camemberts, du brie...etc.
- ✓ **Moisissures internes** : elles sont responsables des veines bleues du fromage persillé et des moisissures internes des autres fromages (*Penicillium roquerforti*, *P.camemberti*) [49].

II.3.3 Microflores pathogènes et leurs rôles

Les produits laitiers renferment une flore microbienne naturelle et/ou additionnelle à l'origine de la diversité des produits. L'origine des contaminations par les bactéries pathogènes varie en fonction de la nature du produit et de son mode de production et de transformation. [50].

II 3.3.1 Les coliformes

Les genres les plus fréquemment isolés dans les laits et également dans les fromages sont: *Enterobacter*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Yersinia*. [43].

Lorsque les coliformes sont à des niveaux élevés dans les laits ou encore dominants, ils sont responsables des gonflements précoces des fromages, du fait de la production de gaz carbonique et d'hydrogène très peu soluble dans le lait. Ils peuvent conférer un aspect spongieux au fromage [46].

II.3.3.2 *Pseudomonas*

Ce sont généralement des bactéries psychrotrophes, capables de se développer à 7°C ou moins, L'espèce la plus répandue dans les laits est *P. fluorescens*. Les niveaux de *Pseudomonas* dans les laits de vache sont variables selon les études [43]. Par ailleurs certaines espèces, notamment *P. fluorescens* produisent des pigments qui sont à l'origine de défauts de coloration et de goût (rance, amertume) de la surface des fromages [51].

II.3.3.3 Staphylocoques

Ils sont principalement représentés par *Staphylococcus aureus*, pathogène présent dans le lait cru. L'origine principale de cette contamination est l'excrétion de *S. aureus* par des animaux laitiers atteints de mammites [46].

L'ingestion de l'entérotoxine produite par *S. aureus* provoque des troubles gastro-intestinaux (des vomissements, souvent accompagnés de diarrhée pouvant causer une déshydratation) ce qui peut être grave chez des sujets à risques [48].

II.4 Technologie du fromage

La transformation du lait en fromage comporte en générale Cinq étapes:

- **Traitement thermique** : traitement par chaleur qui vise à éliminer la flore pathogène qui peut être présente dans le lait.
- **Coagulation** : modification physico- chimique entraînant la formation d'un gel sous l'action d'acide lactique et/ou enzymes.
- **Egouttage** : séparation de lactosérum du caillé.
- **Saurage** : incorporation du sel.
- **Affinage** : transformation biochimique du caillé sous l'action des enzymes [52].

II.4.1. Traitements thermiques

Les traitements thermiques sont couramment utilisés en industrie agro-alimentaire.

Différents types de traitements thermiques existent en fonction du résultat souhaité :

- **Pasteurisation** : un traitement thermique modéré permettant la destruction des microorganismes pathogènes et d'un grand nombre de microorganismes d'altération. La température utilisée est généralement inférieure à 100°C et la durée est de quelques secondes à quelques minutes.
- **Stérilisation** : un traitement thermique qui a pour finalité de détruire toute forme microbienne vivante, la température utilisée est généralement supérieure à 100°C de quelques secondes à quelques minutes. Le produit stérilisé est ensuite rapidement refroidi puis conditionné aseptiquement [53].

II.4.2 Coagulation du lait

La coagulation du lait mène à la formation d'un coagulum, cette agglomération résulte de l'association des micelles de caséine plus au moins modifiées. Ces modifications physico-chimiques des caséines sont induites soit par acidification (coagulation par acidification) soit par action d'enzymes coagulantes (coagulation enzymatique), soit par les deux (coagulation mixte) [54].

Le **tableau n°06** illustre les différents types de fromage selon le mode de coagulation.

Tableau n°06: Les différents types des fromages et leurs caractéristiques [55].

Type de fromage	Caractéristique	Exemples
Fromage de type Lactique	Obtenus essentiellement par coagulation biologique appelé aussi coagulation lactique ou coagulation par acidification. -Ils sont fabriqués à une température qui va de 16 à 23°C. -Ce fromage demande pour sa fabrication 3 à 10ml de présure pour 100l de lait.	Fromage à pâte fraîche: -Petit suisses -Fromage demi-sel -Chabichou
Fromage de type Présure	-Obtenus essentiellement par coagulation chimique appelé aussi coagulation par l'action des enzymes (la présure). -Ils sont fabriqués à une température qui va de 34 à 40°C. -Ce type de fromage demande pour sa fabrication 25 à 35 ml de présure pour 100l de lait.	Fromage à pâte pressée: -Saint-nectaire -Reblochon Fromage à pâte ferme non cuite : -Cantal Fromage à pâte ferme cuite : -Comté -Emmenthal
Fromage de type Mixte	-Obtenus par coagulation chimique et par coagulation biologique. -Ils sont obtenu par les deux méthodes de manière équivalente. -Ils sont fabriqués à une température de	Fromage à pâte molle : -Camembert -Brie -Roquefort

	28 à 37°C. -Ce type de fromage demande pour sa fabrication 15 à 25 ml de présure pour 100 l de lait	
--	--	--

II.4 .3 Egouttage

Cette phase consiste en l'élimination plus ou moins grande du lactosérum emprisonné dans les mailles du gel formé par voie acide et/ou enzymatique [56]. L'égouttage commence dans les cuves de coagulation, se poursuit dans les moules, puis dans les hâloirs.

II.4.4 Saumurage

En fromagerie, le salage est une phase indispensable à la fabrication des produits affinés. La teneur en sel des fromages varie selon le type de fromage, en moyenne elle est de 0,5-2 g/100 g dans la plupart des fromages [39].

L'incorporation du chlorure de sodium dans le fromage a pour objectifs de :

- Assurer un complément d'égouttage ;
- Contribuer éventuellement à la formation de la croûte ;
- Régler l'activité de l'eau du fromage qui oriente et freine les développements microbiens et les actions enzymatiques au cours de l'affinage ;

II.4 .5 Affinage des fromages

L'affinage est l'étape la plus complexe de la fabrication des fromages maturés qui dépend de chaque caractéristique physico-chimique ou microbiologique du fromage [57]. C'est un processus biochimique complexe et long qui correspond à une phase de digestion enzymatique des constituants du caillé par les différents agents [19]. Le fromage devient donc le siège de différentes dégradations qui s'effectuent simultanément ou successivement aboutissant à la libération de substances sapides et odorantes en même temps que la modification de la texture [58].

Selon **Desmazeaud et Cogan (1996)** [59], L'affinage est en fait la résultante de trois principales actions biochimiques qui se déroulent simultanément à savoir **(la figure n°03)** :

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

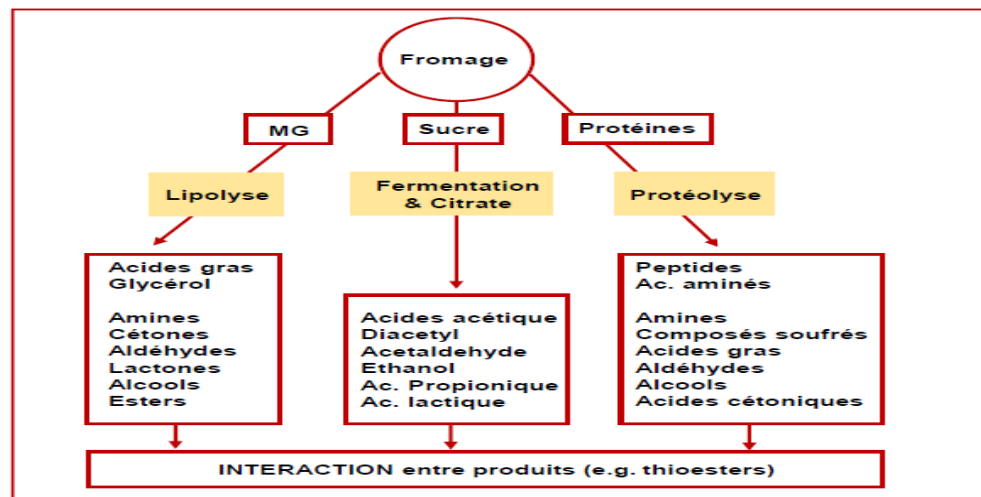


Figure n°03 : Transformations biochimiques ayant lieu dans un fromage au cours de l'affinage [45].

II.4 .5.1 Mécanismes de l'affinage

Les transformations précitées se font par l'intermédiaire d'agents de maturation et principalement par les enzymes et les micro-organismes ; leur activité est fortement dépendante à la fois de facteurs internes au fromage et des facteurs externes.

La biochimie de l'affinage se distingue par une extrême complexité et par son caractère très spécifique pour chaque type de fromage. Cette complexité résulte de la grande diversité des agents de l'affinage, de celle des constituants intéressés par les transformations et de l'existence de nombreuses interactions entre les phénomènes responsables [60].

II.4 .5.2 Modalités de l'affinage

a. Rôle du pH

Son rôle est essentiel. Il règle à la fois :

- Le développement des micro-organismes constituant les flores internes et superficielles,
- la production d'enzymes par ces micro-organismes,
- L'activité des diverses enzymes contenues dans le substrat, qu'elles soient d'origine microbienne ou apportées par voie exogène.

Le pH du fromage est l'un des facteurs qui conditionnent la pousse des microorganismes et l'activité des enzymes. Étant donné les espèces, selon les espèces, le pH toléré va de 3 à 10[48]. Les bactéries se développent préférentiellement sur les substrats à caractère voisin de la neutralité, alors que les moisissures et les levures ont une plus grande affinité pour les milieux acides [61]. Le pH ne doit pas être trop bas car il empêche alors l'activité enzymatique qui permet au fromage de s'affiner [48].

b. Rôle de l'activité de l'eau « aw »

En début d'affinage, l'aw du fromage résulte en partie des modalités de la coagulation et de l'égouttage qui ont conduit à l'élimination plus ou moins importante de l'eau constitutive du lait, mais également de l'état de répartition du sel apporté lors du salage.

Dans la suite de l'affinage, le facteur principal déterminant l'aw est l'hygrométrie des locaux. Ces deux paramètres sont directement définis par les pressions partielles de vapeur d'eau du Produit et de l'ambiance.

En pratique l'affinage est toujours réalisé à une hygrométrie inférieure à la saturation car une ambiance saturée entraînerait à la surface du fromage une aw voisine de 1 qui favoriserait la prolifération d'un grand nombre de micro-organismes indésirables.

Il convient de noter par ailleurs que les réactions d'ordre biochimique intervenant dans le substrat en cours d'affinage correspondent pour la plupart à des réactions d'hydrolyse qui fixent de l'eau. En conséquence, elles entraînent une diminution de l'eau libre et donc celle de l'aw [62-63].

c. Rôle de la température

Les micro-organismes intervenant dans l'affinage sont presque exclusivement mésophiles. Les levures et les moisissures possèdent leur optimum de développement à 20 – 25° C. Les bactéries lactiques ont leur optimum à 30 – 35° C, à l'exception des espèces thermophiles Pour lesquelles l'optimum de croissance est voisin de 45° C [64-9].

En technologie fromagère, la température des locaux d'affinage est toujours réglée à une valeur très inférieure à celle des températures optimales de croissance des microorganismes et d'activité des enzymes. Cette pratique permet de ralentir l'évolution du substrat et ainsi de la mieux maîtriser notamment en fonction des exigences imposées par la commercialisation [65].

d. Rôle de la composition de l'air

Pour les fromages affinés à l'aide de micro-organismes, il y a lieu d'adapter la composition de l'atmosphère des locaux à leurs besoins en oxygène.

La maîtrise de la composition chimique de l'ambiance (NH_3 , O_2 , CO_2) permet d'orienter le développement de la microflore de surface et les échanges entre le produit et l'air.

De ce fait, un renouvellement d'air par apport d'air neuf est indispensable. Il y a intérêt à filtrer celui-ci pour éviter le risque de contamination des locaux et des fromages [62].

III. Fromage à pâte molle

Les fromages à pâtes molles ont une texture généralement crémeuse et onctueuse avec une légère élasticité dans la pâte. Ils sont fabriqués à partir de lait pasteurisé ou de lait cru de chèvre, de vache ou de brebis. Ce type de fromage se divise en deux catégories :

III.1 Fromage de pâte molle à croûte lavée

Le principe de fabrication d'une pâte molle à croûte lavée est semblable à celui des pâtes molles à croûte fleurie, sauf que le caillé est coupé plus ou moins finement avant d'être mis en moule.

La pâte sera plus serrée, plus compacte mais néanmoins moelleuse, coulante ou plus ferme, selon le degré de séchage(**figure n°04**).



Figure n°04: modèle d'un fromage à pâte molle à croûte lavée.

III.2 Fromage à pâte molle à croûte fleurie type camembert

Il se caractérise par une croûte blanche à dorée recouverte d'un duvet de moisissures blanc et feutré appelé fleur qui se développe pendant l'affinage (**figure n°05**). Ces aspects duveteux de la croûte sont dus à la présence du champignon *Penicillium candidum* [66].



Figure n°05: modèle d'un fromage à pâte molle à croûte fleurie.

III.2.1. Définition

Le Camembert fait partie des fromages à pâte molle et à croûte fleurie, il a une couleur allant du blanc cassé au jaune pâle et une texture molle, mais non friable, affinée de la surface au centre du fromage.

Ainsi, la dénomination Camembert est réservée à un fromage à pâte molle, à égouttage spontané, à caillé non déversé, en forme du cylindre plat, d'un diamètre de 10-11 à 15 cm, fabriqué avec du lait emprésuré, à pâte légèrement salée, à moisissures superficielles renfermant au moins 40 gramme de matière grasse par 100 gramme après complète dessiccation et dont le poids total de la matière sèche ne doit pas être inférieur à 110 grammes[67].

III.2.2. Composition physico-chimique du Camembert

Le fromage de type Camembert est riche en protéines, lipides, minéraux et vitamines, le (tableau n°07) présente la composition moyenne de fromage à pâte molle de type Camembert.

Tableau n°07 : Composition moyenne de fromage à pâte molle type Camembert [68].

Composition	Teneur
Eau	50(g)
Energie	310
Glucides	4 (g)
Lipides	24 (g)
Protéines	20 (g)
Calcium	400 (mg)
Phosphore	250 (mg)
Magnésium	20 (mg)
Potassium	150 (mg)
Sodium	700 (mg)
Zinc	5 (mg)
Vitamine A	1010(U.I)

III.2.3. Microbiologie du camembert

Les microorganismes du lait cru sont souvent abordés sous l'angle technologique. En effet, ils jouent un rôle non négligeable en transformation fromagère du lait cru et sont communément classés en microflore d'intérêt technologique, microflore d'altération, et microflore potentiellement pathogène [69].

III.2.3.1. Flore d'affinage

Parmi les différentes variétés fromagères, le camembert est reconnu pour la grande complexité de son affinage et sa rapidité. En fait, cette complexité est attribuée à l'importance de la diversité de la microflore d'affinage. Cette dernière est composée de différentes espèces bactériennes, de levures et de moisissures.

L'affinage du camembert est marqué par trois grands phénomènes :

a. Métabolisme du lactose

Le métabolisme du lactose débute par sa fermentation en acide lactique via l'activité des bactéries lactiques. Pendant l'affinage, le catabolisme du lactate en dioxyde de carbone et en eau par les ferments fongiques engendre l'implantation d'un gradient de pH entre la surface et le centre de l'aliment ce qui a un impact sur l'évolution microbienne et le développement de la texture [70-71-72].

b. Protéolyse

Dans le Camembert, la protéolyse s'avère être le phénomène biochimique le plus important et le plus complexe. Elle a un impact direct sur le développement de sa texture, soit le ramollissement de la pâte, dû à la dégradation des caséines [71]. De plus, elle contribue à la réduction de l'*aw* de l'aliment puisque les peptides générés ont la capacité de lier une partie de la phase aqueuse ([73-71]). Les peptides et acides aminés formés contribuent ensuite au développement des saveurs ainsi qu'aux défauts d'arômes, tels que l'amertume.

c. Lipolyse

Le catabolisme des lipides du camembert consiste en la dégradation des triglycérides en di glycérides, en mono glycérides et en acides gras libres. Ces derniers sont d'une grande importance puisqu'ils contribuent à la texture de l'aliment, au goût et ils servent de précurseurs à la formation de plusieurs molécules aromatiques telles que les esters, les alcools, les lactones et les méthyle-cétones. D'ailleurs, les méthyle-cétones s'avèrent être les composés aromatiques les plus abondants dans le Camembert [74].

❖ Les bactéries

Constituant la flore dominante de la plupart des fromages, les bactéries lactiques sont des micro-organismes assez hétérogènes qui se caractérisent par une production de quantité plus ou moins importante d'acide lactique. Ces bactéries regroupent un certain nombre d'espèces appartenant aux genres *Streptococcus*, *Lactobacillus* et *Lactococcus* [75].

VISSER (1977), signale que les bactéries lactiques présentent une action complémentaire à celle de la présure lors de l'affinage. En effet, cette enzyme provoque une première dégradation limitée des caséines en peptides de haut poids moléculaire, suivie d'une Protéolyse en peptides plus petits et en acides aminés libres. La caséine α s1 (ou son produit de dégradation par la présure) est principalement attaquée par ces bactéries [76].

❖ Levures

Tolérant des environnements acides et salés, les levures sont les premières espèces à coloniser la surface du Camembert. Elles sont visibles dès les trois premiers jours de l'affinage [11].

La diversité associée à ces espèces est variable. Dans les fromages type Camembert faits au lait cru, les levures majoritairement retrouvées sont *Kluyveromyces marxianus* ssp. *Lactis*, *Kluyveromyces marxianus* ssp. *marxianus*, *Saccharomyces cerevisiae* et *Debaromyces hansenii* [77]. Elles ont été identifiées à la surface et au centre de l'aliment et leur répartition varie entre les différents fromages et le stade d'affinage [78].

❖ Moisissures

Penicillium camemberti est la moisissure la plus importante des fromages type Camembert du fait de ses multiples rôles. Ses spores sont ajoutées volontairement au lait pendant la fabrication fromagère ou vaporisées à la surface du caillé démoulé. *P. camemberti* apparaît en surface un peu plus tard que les levures, soit après 6 à 7 jours d'affinage.

III.2.3.2. Flore de contamination

a. Flore mésophile aérobie totale « FTAM »

La flore mésophile aérobie totale est l'ensemble des micro-organismes aptes à se multiplier à l'air aux températures moyennes, plus précisément ceux dont la température optimale de croissance est située entre 25 et 40°C. Ils peuvent être des micro-organismes pathogènes ou d'altération.

Son dénombrement reflète la qualité microbiologique générale du lait cru et permet de suivre son évolution au cours de sa transformation. Ainsi le nombre de germes totaux pourra donner une indication de l'état de fraîcheur ou de décomposition (altération) du lait [43].

Des valeurs élevées n'indiquent pas nécessairement la présence de pathogènes, aussi des valeurs basses peuvent accompagner la présence de pathogènes à des niveaux dangereux [79].

b. Les coliformes

Les coliformes sont des entérobactéries (bacilles à Gram-, asporulées, glucose+, oxydase-, nitrate réductase+, aérobies anaérobies facultatifs et fermentent le lactose avec production de gaz).

Les genres les plus fréquemment isolés dans les laits sont les suivants : *Enterobacter*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Yersinia*. Ces genres se retrouvent également dans les fromages [43].

III.2.3.3. La flore pathogène

L'origine des contaminations par les bactéries pathogènes varie en fonction de la nature du produit et de son mode de production et de transformation.

Cette flore est représentée principalement par les staphylocoques qui peuvent être retrouvés dans une large gamme de produits alimentaires y compris les produits laitiers. L'être humain et les animaux restent le premier réservoir des staphylocoques qui peuvent facilement être transférés aux denrées alimentaires en cas de non maîtrise de l'hygiène et des bonnes pratiques de fabrication.

C'est pour cela qu'il est plus souvent recommandé d'appliquer les bonnes mesures pour une bonne hygiène dans une industrie agroalimentaire.

Chapitre II
Matériels
et
Méthodes

I. Objectif de travail

L'objectif de cette partie d'étude est de suivre le comportement de la flore microbienne du fromage à pâte molle du type « Camembert » durant sa maturation. D'une manière spécifique il s'agira de dénombrer les germes généralement recherchés dans les produits laitiers :

- ❖ Coliformes totaux ;
- ❖ Coliformes fécaux ;
- ❖ *Staphylococcus aureus* ;
- ❖ Flore totale aérobie mésophile (FTAM).

II. Présentation de lieu de stage.

II.1. Historique de l'unité

La laiterie de la VALLEE est une petite société à grande intérêts publique. Elle est implantée dans la commune de TAZMALT, à 80 Km du chef de lieu de la wilaya de Bejaïa.

C'est une société à responsabilités limitées (SARL), spécialisée dans la production et la commercialisation du lait pasteurisé et l'ben en sachet souple.

Elle a été créée 1998 par les frères ZEGGANE, en 2001 l'installation des équipements était sur pied, mais elle n'est rentrée en production qu'en Avril 2001.

En 2004, il y a eu création d'une sous unité appelée VALLEE GLACE, sa spécialité est la fabrication des crèmes glacées. Elle s'étale sur une superficie totale de 2000 m² y compris les garages de stockage aménagés, les laboratoires d'analyse et les services d'administration. Elle a réussi à se faire une place sur le marché algérien grâce à la qualité de ces produits.

En 2011, il y a eu création d'une sous unité de fromagerie (annexe de la laiterie), sa spécialité est la fabrication du Camembert d'appellation « Rural ».

Sa rentabilité, ses chiffres d'affaires ainsi que ses compétences, font d'elle une entreprise performante et concurrente.

II.2. Missions de l'unité

En générale nous pouvons dire que le but principale de l'entreprise set d'améliorer sa production, dont l'ordre de la qualité en ce qui concerne le lait, crème glacée, Camembert dans le but de satisfaire la clientèle, assurer et gagner sa fidélité. Elle vise à être le numéro un

sur le marché national. L'unité compte 81 employés toutes catégories confondues (cadre, agents, techniciens, laborantins).

L'unité fonctionne 7J/7J, et 24H/ 24H. Et cela avec 3 équipes, les trois équipes qui veillent à assurer une production permanente de produit de très haute qualité.

III. Matériel et méthodes

L'ensemble des travaux a été effectué dans l'atelier du fromage et de laboratoire de physicochimie et de microbiologie de LA VALLEE de TAZMALT de la wilaya de Bejaïa.

III.1. Matériel

Le matériel est globalement divisé en deux parties :

- **Echantillons** : lait cru, fromage à pâte molle à croûte fleurie du type Camembert.
- **Ingrédients utilisés pour la production** : ferments lactiques et les ferments d'affinage et la présure commerciale.

III.1.1 Matériel utilisé pour les analyses bactériologiques

Nous avons utilisé le matériel usuel de laboratoire de bactériologie représenté dans le **tableau n°8**.

Tableau n°8 : Liste de matériel et produits utilisés.

Produits et milieux de culture	Appareils et consommable
Eau physiologique	Etuves (MEMMERT) ;(BINDER)
Milieu désoxycholate	Balance (Scout pro)
Milieu PCA	Bec Bensen
Milieu Chapman	Pipettes pasteur
	Anse de platine
	boites de pétri
	Tubes à essai
	Flacons stériles
	Pistolet pulvérisateur

III.1.2 Matériel utilisé au cours de la fabrication

- Cuve de pasteurisation ;
- Cuve de préparation ;
- Tank de stockage ;
- Tranche caillé ;
- Pelle à brassage ;
- Blocs moule : plateaux, store, moules, raioresses, répartiteurs ;
- Bain de saumure ;
- Claies d'affinage.

III.2 Méthodes

III.2.1 Echantillonnage

Les échantillons de fromage ayant servi aux essais analytiques (analyses microbiologiques) ont été fabriqués dans une fromagerie située dans la région de Tazmalt wilaya de Bejaia et ont été choisis de façon qu'ils soient du même lot de fabrication. Il s'agit d'un fromage à pâte molle et à croûte fleurie de type Camembert fabriqué industriellement à partir du lait de vache cru ayant les caractéristiques suivantes : Matière grasse : 30% Acidité:15,5°D ; Masse volumique: 1,028g /ml ; pH:6,80.

Les meules de fromage (de 125 g chacune) analysées ont été fabriquées selon le diagramme présenté par la (**figure n°16**).

Les échantillons de fromage ont été prélevés aux différents stades du procès:

- Après saumurage ;
- à 04 jours d'affinage en hâloir ;
- à 7 jours d'affinage en hâloir ;
- à 10 jours au séchage avant conditionnement ;
- à 13 Jours après conditionnement.

On a analysé Cinq échantillons de fromage (parmi les douze pièces) fabriqué à partir de 15 L du lait de vache cru.

III.2.2 Processus de fabrication du Camembert

Le processus de fabrication du Camembert passe par deux étapes :

III.2.2.1 Trajet du lait destiné à la fabrication fromagère

A l'arrivée du lait de vache collecté à partir de deux fermiers fournisseurs, la laiterie effectue des analyses physicochimiques dont les principaux caractères immédiatement déterminables sont représentés par le (le tableau n°9).

Tableau n°9 : Principales analyses physicochimiques préliminaires du lait cru

Paramètres	Normes (selon le journal officiel n°35 1998)
Densité	1 ,027 à1 ,030
Stabilité...stable ;	stable
pH	6 ,6 à 6,8
Acidité	14 à17 °D
Matière grasse	30%
Teste d'amidon	négatif (absence de couleur bleu)
Teste d'antibiotique	négatif

III.2.2.2 Les étapes de fabrication du Camembert

a. Maturation etensemencement du lait

La maturation de lait consiste l'entreposer dans des conditions convenables pour que les ferments se développent (température de 37 °C avec une humidité de $90 \pm 2\%$). L'intérêt de cette pratique est de provoquer une multiplication des germes et d'atteindre le niveau d'acidité (dû à l'acide lactique) nécessaire pour la prochaine étape de fabrication.

Le lait estensemencé à raison de 2,5 à 3% par deux types de ferments lactiques (ferments d'acidification et d'affinage).

a.1. Ferments d'acidification

- **Ferments mésophiles aromatiques (DANISCO, France)**

Comprennent des bactéries intervenant dans la production modérée d'acide lactique et du CO₂, avec une forte production de saveur :

-Flora Danica : *Lactococcus lactis subsp .cremoris* ; *Lactococcus lactis subsp .lactis* ; *Leuconostoc mesenteroides subsp cremoris*.

-Flore MM : *Lactococcus lactis subsp .lactis* ; *diacetylactis*.

- **Ferments thermophiles (Chr .Hansen, Danemark)**

Produisent des faibles quantités d'acide lactique et assurent la stabilisation du fromage, les souches utilisées sont :

- *Streptococcus thermophilus*.

- *Streptococcus salivarius subsp thermophilus*.

a.2. Ferments d'affinages (DANISCO, France)

- **levure *Debaryomyces hansenii***

Caractérisée par une croissance rapide et un développement aromatique important. Elle participe à la désacidification des caillés en consommant le lactose et l'acide lactique. Leur action prépondérante pour neutraliser rapidement le pH, permettra la bonne implantation des autres moisissures (*Geotrichum*, *Penicillium*) ou des bactéries acidosensibles.

- ***Staphylococcus xylosus***

Bactérie anaérobie facultative, son activité enzymatique contribue au développement rapide et à l'amélioration de la saveur et de la texture du fromage.

- ***Penicillium candidum***

Connue également sous le nom de *P.Camemberti*, la souche est utilisée particulièrement pour l'inhibition de la contamination par *Mucor*, elle assure aussi l'augmentation de la croissance des autres moisissures et le développement d'une apparence de blancheur et un arôme caractéristique.

- ***Geotrichum candidum***

Agent clé dans la maturation des fromages, il influence grandement l'aspect, la structure et la saveur du fromage. Il est caractérisé par un métabolisme rapide de l'acide lactique dû à sa croissance rapide (24h-48h).

Après ensemencement et maturation du lait et quand le niveau d'acidité atteint les 20°D, on le fait descendre à l'atelier de fabrication du fromage.

b. Emprésurage

La présure commerciale à l'état lyophilisé est ajoutée à raison de 0,12 à 0,15 % pour 15 L de lait après sa préparation dans 1,5 ml d'eau pasteurisée et adoucie.

Le temps de prise est noté ($T = 14\text{min}$), il correspond à la différence entre le temps de l'ajout de la présure et celui de la formation des premières particules du caillé. Ce temps sera multiplier foi trois, afin d'estimer le temps de coagulation totale ($T = 45\text{min}$) (**La figure 6**).



Figure n°6 : Coagulation du lait après emprésurage. [google]

c. Tranchage, brassage et délactosage

Après coagulation, le caillé est tranché verticalement et horizontalement pour former des cubes d'environ 1cm^3 ce qui servira à la libration du caillé des surfaces périphériques des récipients et du coup l'activation de la synérèse.

Le tranchage est suivi d'un brassage qui consiste à mélanger le caillé pour activer la synérèse et permettre au lactosérum de remonter à la surface et au caillé de précipiter. Deux brassages ont été réalisés, 30 à 40% du volume totale de lactosérum est libéré et éliminé par la suite. (**la figure n°7**)



(A)



(B)



(C)

Figure n°7 : Différentes étapes de fabrication du Camembert : A/ tranchage, B/ brassage, C/délactosage.

d. Moulage et égouttage

Cette étape consiste à verser le caillé dans des moules cylindriques (**figure n°8**) pouvant contenir 125 g pour permettre la diffusion de lactosérum, donc le durcissement de la pâte. Après 30 min de moulage un premier retournement a été effectué (30°D) suivi d'un deuxième (45°D) après 8 h de fabrication. Le démoulage est réalisé après 24 h du début de la fabrication (110°D).



Figure n°8 : Moulage du Camembert

E. Saumurage

Après démoulage, les cylindres de pâte obtenus ont été plongés dans une saumure (une solution de NaCl de 22%, de pH= 4,7, T° =12C°) pendant 10 min.(**la figure n°9**)



Figure n°9 : Saumurage du Camembert

F. Affinage

L'affinage des fromages c'est l'étape la plus importante dans le processus de fabrication du Camembert, au cours de laquelle les propriétés organoleptiques se développent ; grâce à différentes réactions biochimiques de la flore interne et externe ; cette étape dure approximativement 12 jours à une température de 13C° et un taux d'humidité de $90 \pm 2\%$. **(la figure n°10)**



Figure n°10 : Affinage en hâloir du produit fini.

III.2.3 Analyses microbiologiques

Les normes utilisées dans notre étude dans le but d'apprécier la qualité microbiologique du lait de vache cru, du fromage au cours de fabrication ainsi que le produit fini sont celles du **(J.O.R.A, 1998) [1]**.

Ce sont presque toujours des microorganismes qui sont la cause de l'altération du lait et des produits laitiers. Ils sont également la principale cause des défauts du fromage. Notre étude microbiologique est basée donc sur les analyses de la matière première **(la figure n°11)**, et le produit fini.

III.2.3.1 Analyse de la matière première « lait cru »



Figure n°11 : Echantillon du lait (Solution mère).

a. La préparation des dilutions décimales: (annexe II)

b. Dénombrement microbienne

La composition des milieux de culture est portée en (annexe I).

b.1. La recherche des micro-organismes aérobies totaux (FTAM)

Ces microorganismes se développent sur un milieu nutritif gélose PCA [32].

➤ Mode opératoire

- Déposer sur une boîte de pétri stérile 1ml de la dilution 10^{-4} ;
- Verser ensuite 15 ml de la gélose PCA en surfusion ;(figure n°12) ;
- Faire homogénéiser le tout par des rotations circulaires ;
- Laisser solidifier sur pailleasse.



A) : Ensemencement en Masse
des FTAM sur gélose PCA

B) : Solidification sur la pailleasse

Figures n°12: Recherche de la flore aérobie mésophile totale sur milieu PCA.

➤ **Lecture des résultats**

Après l'incubation de 72 h à 37 °C, les FTAM apparaissent sous forme de colonies blanches et lenticulaires.

Les boîtes contenant plus de 300 colonies et moins de 30 colonies, elles ne seront pas dénombrées.

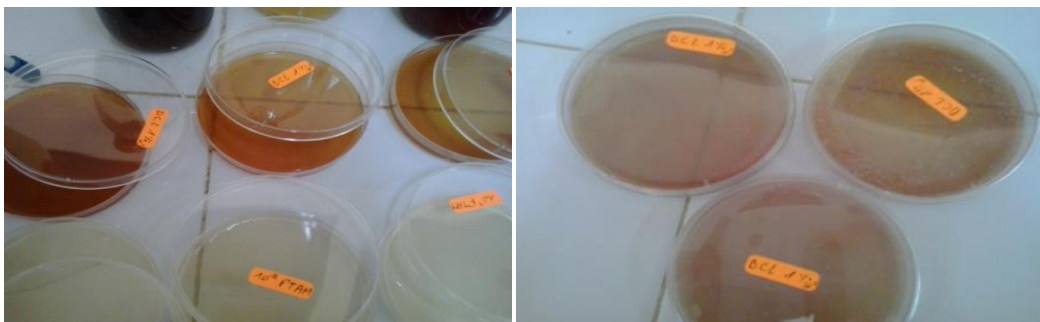
b.2. La recherche de coliformes totaux et de coliformes fécaux

❖ **Les coliformes totaux**

La recherche des coliformes totaux a été réalisée en bicouche sur milieu désoxycholate.

➤ **Mode opératoire**

- Déposer sur une boîte de pétri stérile 1ml de la dilution 10^{-2} ;
- Verser ensuite 15 ml de la gélose DCL en surfusion ; (**la figure n°13**)
- Faire homogénéiser le tout par des rotations circulaires ;
- Laisser solidifier sur pailleasse. (**figure n°13**)
- Ajouter finalement 5 ml de la gélose DCL en surfusion ;
- Laisser solidifier sur pailleasse.



A) : Couler la gélose DCL

B) : Solidification sur la pailleasse

Figure n°13 : Recherche des coliformes totaux sur milieux désoxycholate.

❖ **Les coliformes fécaux**

Pour la recherche des coliformes fécaux dans la dilution 10^{-3} , la même méthode d'ensemencement que les coliformes totaux a été utilisée (**la figure n°14**)

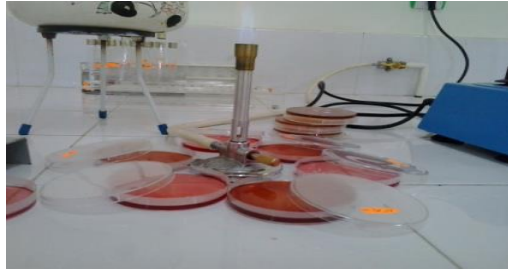


Figure n°14: Recherche des coliformes fécaux sur milieu désoxycholate (solidification sur paillasse).

➤ **Lecture des résultats**

Après incubation de 24 heures à 44 °C et à 37 °C Pour les coliformes fécaux et les coliformes totaux respectivement, Ils apparaissent sous forme des grandes colonies rouges foncé.

b.3. Recherche de *Staphylococcus aureus*

Un isolement a été réalisé en ensemençant en râteau 0.1 ml de la dilution 10^{-2} sur la gélose Chapman.

➤ **Lecture des résultats**

Après l'incubation de 24 heures à 37 °C, une absence totale des colonies *staphylococcus aureus* a été observée.

III.2.3.2 Analyses microbiologiques de produit fini « Camembert »

Afin de suivre l'évolution de la microflore du Camembert au cours de l'affinage, nous avons recherché les groupes microbiens suivants :

- La flore totale aérobie mésophile totale;
- Les coliformes (fécaux et totaux) ;
- Les staphylocoques.

a. Préparation de la solution mère et des dilutions décimales

Dans les conditions d'asepsie, l'échantillon analysé est prélevé sur tous les cotés, en surface et en profondeur du fromage afin de constituer un échantillon représentatif. 10 g de fromage sont homogénéisés dans 90 ml d'eau physiologique, Ce qui forme la solution mère [1].

Une série de dilutions décimales est ensuite réalisée en prélevant 1 ml de la solution mère dans 9 ml d'eau physiologique, ce qui constitue la dilution 10^{-1} , puis après homogénéisation de cette dernière, la même opération est répétée pour l'obtention des dilutions successives afin de préparer le nombre de dilutions décimales approprié pour le dénombrement de chaque flore[1].

b. Dénombrement de la flore microbienne recherchée

b.1. Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM)

La flore totale aérobie mésophile (FTAM) est constituée d'un ensemble de microorganismes variés correspondant aux germes banaux de contamination, aptes à se multiplier à l'air libre avec une croissance optimale à 30°C.

Son dénombrement reflète la charge et la qualité microbiologique du produit étudié [43]. (le tableau n°10).

➤ Mode opératoire

- Inoculer dans deux boîtes de pétri stérile, 1 ml de la dilution 10⁻⁴
- Couler la gélose PCA en surfusion dans chaque boîte de Pétri ;
- Homogénéiser parfaitement l'ensemble par rotations circulaires et laisser solidifier ;
- Incuber à 30°C pendant 72h.

➤ Lecture

Après les 72h d'incubation, la FTAM apparait sous formes de colonies blanches lenticulaires (la figure n°15). Les résultats sont exprimés en nombre de germes par ml ou par g de produit selon la formule suivante : $X = N = \frac{1}{V \times D}$

X=le nombre de germe (UFC) par ml ou de g par produit

N=nombre de colonies (avec 30<N<300)

V=volume de l'inoculum ;

D=facteur de dilution ou la dilution considérée.

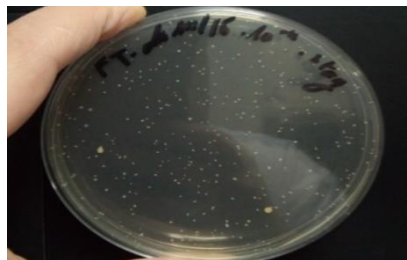


Figure n°15 : Colonies blanches et lenticulaires des FTAM après 72 h d'incubation à 30°C.

b.2. Recherche et Dénombrement des coliformes

Les coliformes sont capables de se multiplier en présence des sels biliaires et capables de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz en 24h. Le milieu utilisé est le désoxycholate contient en plus de la bile, le vert brillant qui jouent le rôle des agents sélectifs en inhibant la croissance des bactéries Gram+ [81] (le tableau n°10).

➤ **Mode opératoire**

- Inoculer dans des boîtes de pétri vides et stériles, 1 ml de l'échantillon ou de la dilution 10^{-1} (Pour coliformes fécaux) et de la dilution 10^{-2} (pour les coliformes totaux) ;
- Couler la gélose désoxycholate en surfusion dans chaque boîte de Pétri ;
- Homogénéiser parfaitement l'ensemble par rotations circulaires et laisser solidifier ;
- Réaliser ensuite une double couche du même milieu en surface du milieuensemencé ;
- Incuber dans l'étuve pendant 24h à deux températures différentes : à 30°C pour les coliformes totaux et à 44°C pour les coliformes fécaux.

➤ **Lecture**

Après incubation, la présence des germes est indiquée par le développement des colonies de couleur rose à rouge cerise. Les résultats sont exprimés en nombre de germes par « ml » ou « g » de produit en utilisant la même formule que précédemment. **(Voir la figure n°16).**

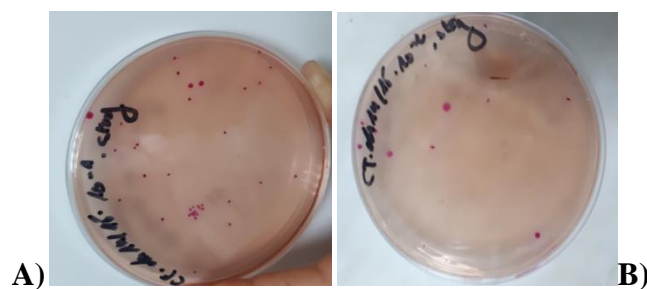


Figure n° 16: Colonies rouge cerise des coliformes fécaux (A) et des coliformes totaux (B) après incubation (24 h) à 44°C et à 30°C respectivement. **(Photos personnelle).**

b.3. Recherche et Dénombrement des staphylocoques

Les bactéries de genre *staphylococcus* sont des coques à Gram+, non sporulés et immobiles. Les *S. aureus* sont les seuls souches capables de produire une entérotoxine protéique qui cause des intoxications alimentaires [82] ce qui permettra donc de savoir si l'aliment présente des risques pour le consommateur ou non. **(le tableau n°10).**

➤ **Mode opératoire**

- Ensemencer à l'aide d'une anse de platine préalablement stérilisée un volume de 0,1 ml de la dilution 10^{-2} par la méthode des stries sur des boîtes de pétries déjà coulées avec le milieu Chapman.
- Incuber à l'étuve à 37°C pendant 24h.

➤ **Lecture**

Les *Staphylococcus aureus* donnent des colonies jaunes dorées sur le milieu Chapman. (la **Figure n°17**).



Figure n°17: *Staphylococcus aureus* sur milieu Chapman après 24 h d'incubation à 37°C (résultat négatif). (Photo personnelle)

Les différentes analyses effectuées pour le dénombrement des flores recherchées sont résumées dans le (tableau n°1 présente en annexe III).

Tableau n°10 : Normes microbiologiques du Camembert selon le journal officiel algérien 1998.

Micro-organismes	n	c	m
Coliformes	5	2	10 ²
Coliformes fécaux	5	2	10
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	1	10 ²
<i>Clostridium sulfito réducteur 46°C</i>	5	2	1
<i>Salmonella</i>	5	0	Absence

n : nombre d'unité d'échantillonnage, **c** : nombre de résultat compris entre **m** et **M**, **m** : critères microbiologique fixée par la loi (unité : UFC/g). **M** : la limite maximale d'acceptabilité ($M=10^* m$)

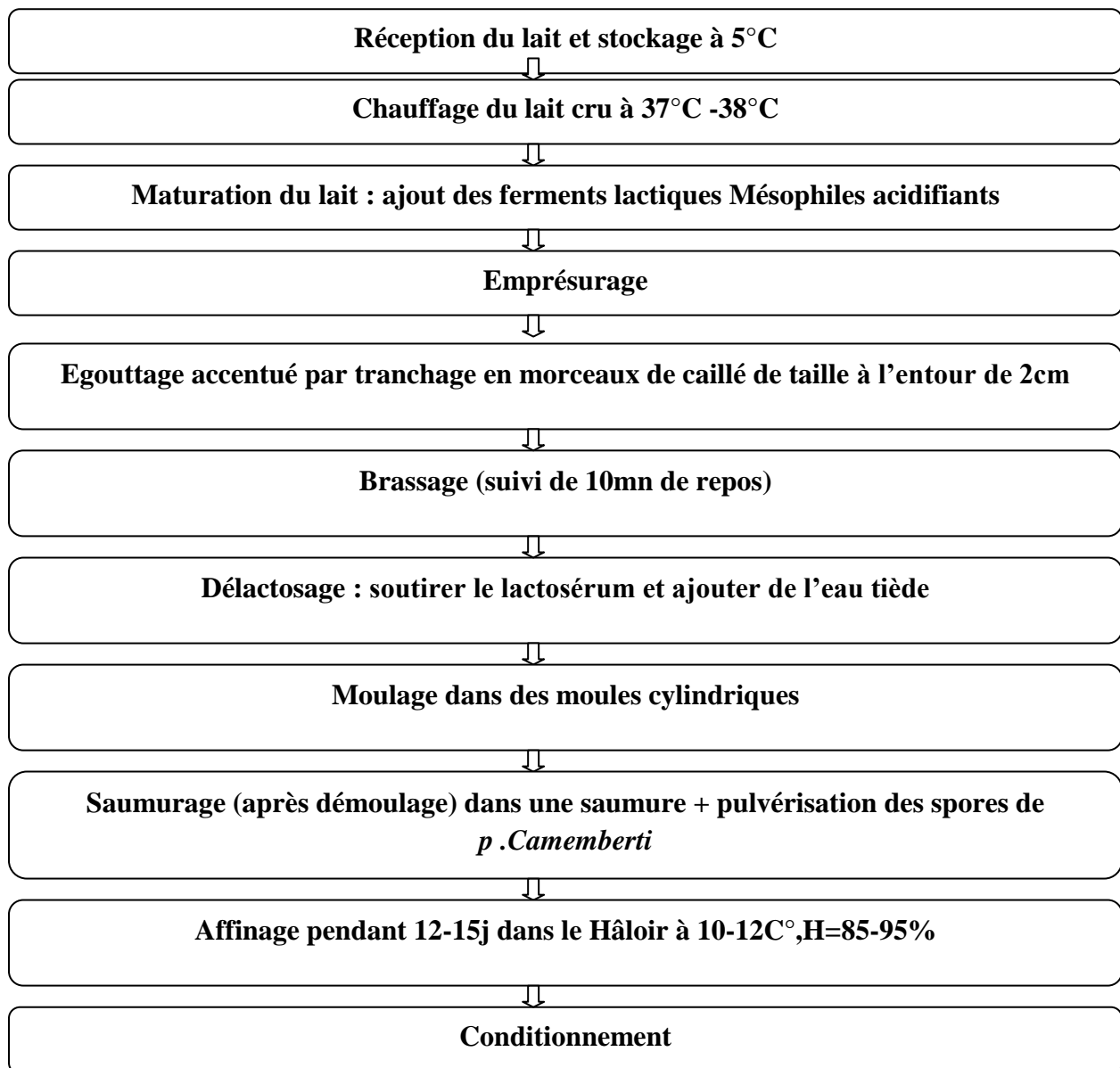


Figure n°18 : Diagramme de fabrication du Camembert

Chapitre III
Résultats
Et
Discussion

Chapitre III : Résultats et discussion

Notre travail a consisté en premier lieu à fabriquer à petite échelle un fromage à pâte môle type Camembert à partir de 15 litres de lait de vache cru dont les caractères physicochimiques et microbiologiques ont été déterminés , puis parallèlement nous avons suivi la technologie de fabrication de ce fromage à l'échelle industrielle, par la suite nous avons effectué des analyses microbiologiques du fromage fabriqué, après saumurage, au (4^{ème}, 7^{ème} et 10^{ème} jours) d'affinage et enfin sur le produit fini au (15^{ème} jour d'affinage).

I. Résultats des analyses microbiologiques

Les normes utilisées dans notre étude dans le but d'apprécier la qualité microbiologique du lait cru, du fromage au cours de fabrication ainsi que le produit fini sont celles du **J.O.R.A(1998) [1]**.

Ce sont presque toujours des microorganismes qui sont la cause de l'altération du lait et des produits laitiers. Ils sont également la principale cause des défauts du fromage. Nôtre étude microbiologique a été basée donc sur les analyses de la matière première, et du produit fini.

I.1.Analyses microbiologiques de la matière première « Lait cru »

L'appréciation de la qualité bactériologique du lait cru consiste en la recherche des micro-organismes de prolifération du lait qui constitue un excellent milieu de culture.

Les résultats des analyses microbiologiques du lait cru sont représentés par le (**tableau n°11**).

Tableau n°11 : Résultats des analyses microbiologiques du lait cru exprimés en UFC /ml.

Les types de germes	Nombres de bactéries UFC/ml	Les normes microbiologiques du lait cru (J.O.R.A, 1998)
Coliformes totaux	1,2x10 ⁴	-
Coliformes fécaux	3x10 ³	10 ³
Staphylocoques	Absence	Absence
Flore mésophile totale	5,5x10 ⁵	10 ⁵

I.1.1. La flore totale aérobique mésophile « FTAM »

La flore mésophile aérobique nous renseigne toujours sur la qualité hygiénique du lait cru, elle est considérée comme le facteur déterminant la durée de conservation du lait frais. C'est la flore la plus recherchée dans les analyses microbiologiques [83].

Les échantillons prélevés présentent une charge importante en microorganismes de la flore totale ($5,5 \cdot 10^5$ UFC/ml). En effet, selon (JORA, 1998), ces seuils de contaminations en flore totale dépassent la norme fixée à 10^5 UFC/ml (la figure n°19). Ils sont également supérieurs aux charges maximales tolérées par les deux réglementations françaises et américaines qui sont respectivement de $5 \cdot 10^5$ UFC/ml et $3 \cdot 10^5$ UFC/ml [14].

Nos résultats ont été aussi comparés à ceux trouvés par Labioui et al., (2008)[84] et (Mansour.,2015)[85] qui sont arrivés à des valeurs beaucoup plus importantes que les nôtres ($4,5 \cdot 10^6$ UFC/ml) ($3,71 \cdot 10^6$ UFC/ml) respectivement. Et celles de Aggad et al., (2009)[86] dans l'ouest algérien où le niveau de contamination moyen avoisine $8,3 \cdot 10^5$ UFC/ml.

Nos échantillons sont de qualité non satisfaisantes au vu des normes algériennes, et ce malgré des températures de saison relativement basses au cours de la période d'étude (mois d'Avril). Ceci peut être expliqué d'après Amhour (1998)[87] par le manque de respect des bonnes pratiques de production et du stockage du lait de la traite du soir qui va ensuite être mélangé avec le lait de la traite du lendemain matin.

Par ailleurs, (Richard, 1983) [69], a constaté que pour des laits fortement pollués (entre 10^5 et 10^8 microorganisme/ml) la flore totale est essentiellement constituée par des streptocoques et des bactéries à Gram négatif. Ces bactéries, selon (Thomas, 1977) [75] cités par (Richard, 1983)[69], dominent habituellement dans la vaisselle laitière mal lavée.

Cependant, les conditions environnementales comme la température, l'origine et la qualité du lait, pourraient avoir une influence significative sur sa charge microbienne Ouadghiri et al.,(2009)[88]. Nous avons en effet, constaté au cours de notre étude que le transport du lait depuis la ferme jusqu'à l'unité de transformation se fait dans des bidons et/ou citernes non réfrigérées.

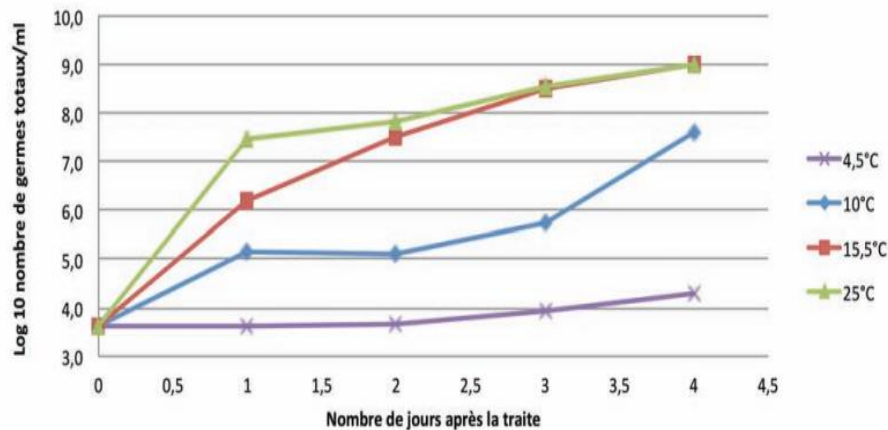


Figure n°19 : Evolution de la population en germes totaux en fonction des températures de stockage du lait après la traite.

I.1.2. *Staphylococcus aureus*

D'après le JORA (1998), la norme relative au *Staphylococcus aureus* est l'absence totale dans le lait cru. Les résultats obtenus, répondent à cette exigence comme c'est montré dans le (le **tableau n°11**).

Ces résultats sont similaires à ceux rapportés par (**Mansour, 2015** et **Hamama, 1992**)[85-89]. Par contre, (**Aggad et al., 2009**)[86] dans l'Ouest Algérien et (**Affif et al., 2008**)[87] dans Tadla au Maroc ont obtenu des résultats plus élevés avec une moyenne de 35.10^2 UFC/ml et de 8×10^2 UFC/ml respectivement.

La contamination par *Staphylococcus aureus* a deux origines :

- Chez l'homme de nombreuses infections : furoncles, plaies suppurées, angines...etc
- Chez les animaux atteints de mammites, d'abcès.

Selon **Thieulon (2005) [90]**, les infections mammaires à staphylocoques représentent la principale source de contamination du lait à la production. Cette bactérie est responsable d'une proportion importante des mammites subcliniques et chroniques chez la vache laitière, et d'environ un tiers des mammites cliniques.

D'après ça, l'absence de *Staphylococcus aureus* dans le lait cru analysé peut être expliqué par :

- Etat sanitaire de l'animal (faible prévalence de mammite dans l'élevage) ;
- Hygiène de traite, (hygiène du personnel, nettoyage et désinfection des locaux, des équipements et des ustensiles de traite)

I.1.3. Les Coliformes fécaux

Selon le (tableau n°11) et (la figure n°18), le nombre de coliformes fécaux dans le lait de vache analysé est égal à 3×10^3 UFC/ml. Ce résultat est supérieur à la norme fixée par (JORA.,1998) (10^3 UFC/ml), et aux résultats annoncés par (Bedjaoui et Kerirem, 2016) et (Kouame et al., 2010)[91] avec des valeurs de $6,8 \times 10^2$ et $1,5 \times 10^3$ UFC/ml respectivement. Par contre, ils sont inférieurs à ceux rapportés par (Labioui et al., 2008)[84] ($1,3 \cdot 10^4$ UFC/ml).

Mocquot et Guittonneau (1939) [92] ont démontré que les coliformes du genre *Escherichia* sont les plus fréquents dans les excréments des vaches laitières. Ils contaminent le lait directement (par contact direct avec le pis), ou se multiplient lors d'un mauvais nettoyage dans les rinçures des ustensiles laitiers.

La présence des coliformes fécaux est considérée comme un indice de contamination fécale, il s'agit donc plutôt de marqueurs de mauvaise maîtrise d'hygiène ainsi qu'à la mauvaise manipulation [43].

Dans les élevages, les déjections des bovins constituent le principal réservoir de ces bactéries. Les principaux vecteurs sont la peau des trayons souillée par les fèces et le matériel de traite mal conçu et de ce fait mal nettoyé, où les bactéries coliformes peuvent coloniser entre les traites [93].

I.1.3. Les coliformes totaux

La réglementation algérienne ne définit pas une norme pour les coliformes totaux dans le lait cru. Pour cela, nous avons essayé de comparer nos résultats à d'autres études similaires.

D'après le (tableau n°11) et (la figure n°20), le nombre de coliformes totaux trouvés dans le lait de vache est égale à $1,2 \times 10^4$ UFC/ml. Ces résultats présentent un dénombrement supérieur par rapport aux résultats trouvés par Labioui et al. (2008)[84] et Kiemptore et Assemana (2013)[94] avec des moyennes de $1,8 \times 10^3$ UFC/ml et de $9,6 \times 10^3$ UFC/ml respectivement. Mais se révèlent inférieurs à ceux trouvés par Kouamé-sina et al. (2010) [95] avec une charge de $3,2 \cdot 10^5$ UFC/ml.

Selon Larpent (1990)[96], la présence des coliformes totaux n'est pas obligatoirement une indication directe de la contamination fécale. Certains coliformes sont, en effet, présents dans les résidus humides rencontrés au niveau de l'équipement laitier.

Magnusson et al.(2007)[97],ont également ajouté que les litières fortement souillées contiennent plus de coliformes qui en présence de mauvaises conditions de transport et de manque d'hygiène pendant la traite vont contaminer le lait.

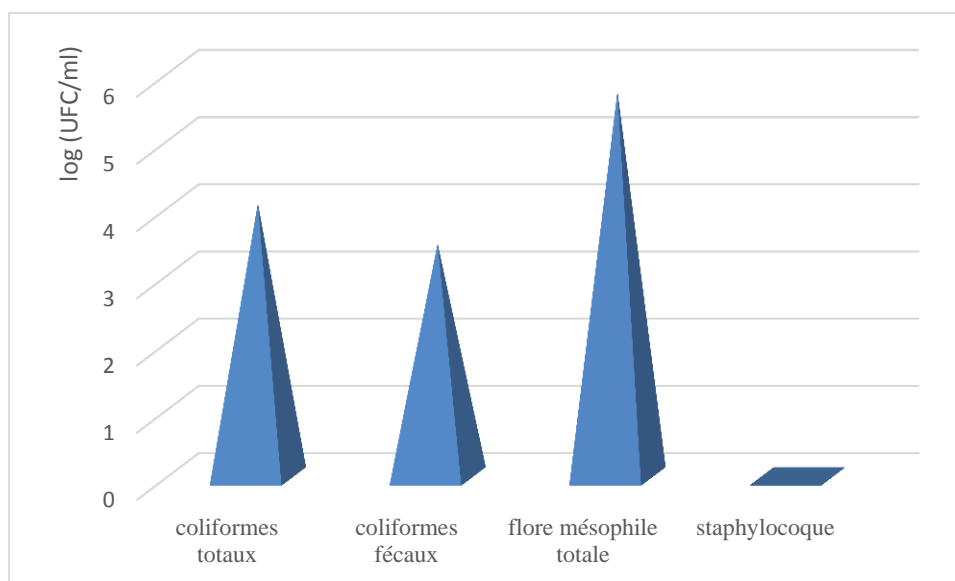


Figure n°20: Résultats d'analyses microbiologiques du lait cru.

I.2. Analyses bactériologiques du Camembert

L'analyse microbiologique a une importance particulière puisqu'elle nous renseigne sur le processus et les conditions de fabrication.

Les résultats des analyses microbiologiques du Camembert exprimés en UFC/ml sont représentés dans le (tableau n°12) et la (la figure n°21).

Dans une série d'analyses bactériologiques d'un fromage de type Camembert, nous avons suivi les variations du nombre des coliformes, de staphylocoques et de la flore totale présents dans un fromage à pâte molle fabriqué à base de lait cru au cours de son affinage et de sa conservation au froid.

Tableau n°12 : Résultats des analyses microbiologiques du Camembert fabriqué à partir du lait cru exprimés en UFC/ml.

Germes recherchés	Après saumurage	Après ressuyage	Au 7 ^{ème} jour d'affinage	Au 10 ^{ème} jour d'affinage	En fin d'affinage

dans le Camembert	J+1	J+5	J+8	J+11	J+15
La flore totale aérobie mésophile	$9,6 \times 10^5$	$4,6 \times 10^5$	$7,8 \times 10^5$	$2,1 \times 10^5$	$< 10^5$
Les staphylocoques	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
Les coliformes totaux	18×10^2	$15,7 \times 10^2$	8×10^2	4×10^2	$< 10^2$
Les coliformes fécaux	$12,4 \times 10$	$8,2 \times 10$	$4,3 \times 10$	$2,1 \times 10$	< 10

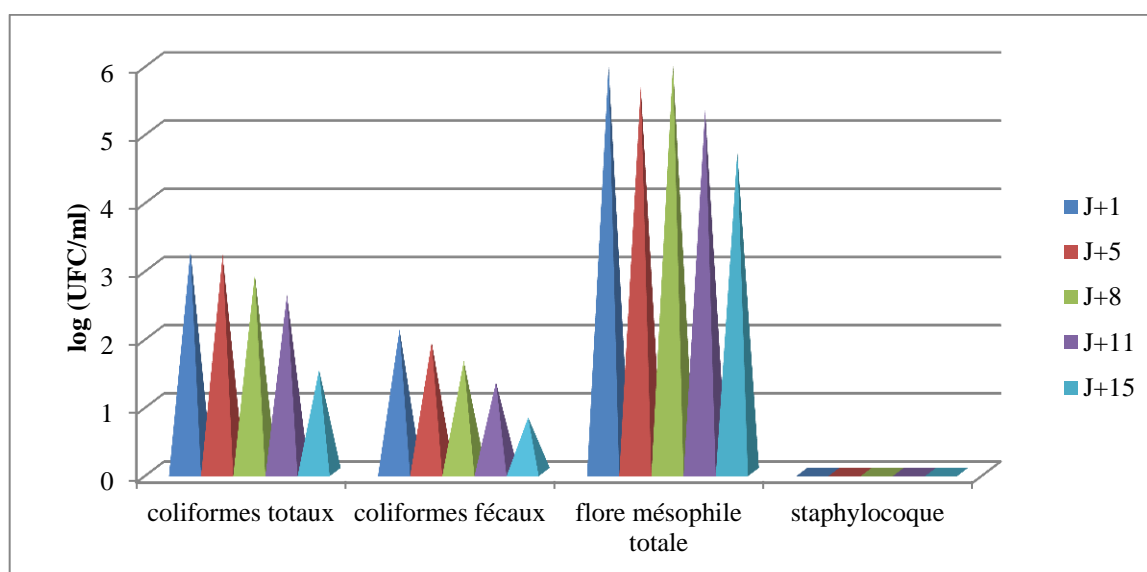


Figure n°21: Evolution des quatre groupes microbiens au cours d'affinage d'un Camembert fabriqué au lait cru.

I.2.1. Staphylocoques

Staphylococcus aureus est un germe potentiellement producteur de toxines, mais non mortel, sécrété naturellement par les animaux. Il peut se développer ensuite énormément lors de certains types de fabrication fromagères avant de diminuer considérablement avec l'affinage.

Le **J.O.R.A n°35, 1998**, fixe la norme relative au Camembert (produit fini) en terme *Staphylococcus aureus* à une valeur de 10^2 UFC/ml.

Les résultats obtenus révèlent une absence totale de ce germe dans le fromage analysé tout comme dans le lait de départ ce qui est en accord avec la norme algérienne de (10^2 UFC/ml) ainsi qu'aux résultats annoncés par **Abarkan et Amghar (2013)** et **benloucif et oulmi(2017)[68]**. Quant à **Barache et Bouatman (2016)[98]** et **Aissou et Abbas (2016)[99]** ils ont trouvé des valeurs beaucoup plus importantes de l'ordre de $2,3 \times 10^3$ UFC/ml et de 3.10^4 UFC/ml respectivement. De ce fait, nôtre fromage est conforme à la norme algérienne précitée.

Cette conformité peut s'expliquer par :

- D'abord, l'absence de *Staphylococcus aureus* dans le lait cru utiliser au départ pour la fabrication du fromage analysé.
- Ensuite, le bon respect des règles d'hygiène générale tout au long du procès de fabrication du fromage, de la réception du lait jusqu'à la fin d'affinage et de la conservation au froid du produit fini. [93]

I.2.2. Coliformes

Le dénombrement des coliformes totaux et fécaux au début d'affinage a montré une charge de 18×10^2 UFC/ml et de $12,4 \times 10$ UFC/ml respectivement, ces valeurs sont largement supérieures aux normes algériennes relatives aux fromages à pâte molle qui tolèrent une valeur de 10^2 UFC/ml pour les coliformes totaux et de 10 UFC/ml pour les coliformes fécaux (JORA, 1998). Cependant, ces valeurs sont inférieures aux valeurs obtenues lors de l'analyse du lait cru (**tableau n°11**).

Par la suite, cette flore avait tendance à diminuer au fur et à mesure que le fromage s'affine pour atteindre à la fin (15^{ème} jour d'affinage) une valeur $< 10^2$ UFC/ml pour les coliformes totaux et < 10 UFC/ml pour les conformes fécaux, ce qui répondrait aux normes algériennes fixées par le JORA(1998) (**le tableau n°12 et la figure n°21**). Nôs résultats semblent être inférieurs à ceux obtenus par **Benloucif et Oulmi (2017)[68]** avec 4.10^2 UFC/ml et 3.10 UFC/ml pour les coliformes totaux et fécaux respectivement. et supérieurs à ceux obtenus par **Abarkan et Amghar (2013)** qui ont marqué une absence totale de coliformes totaux et fécaux lors de l'analyse de produit fini.

La présence de coliformes dans les échantillons de fromage analysés, peut être expliquée par leur multiplication pendant le procédé de fabrication à base de lait cru qui présentait à la base une certaine charge en coliformes. Comme elle peut être liée à une

contamination suite aux mauvaises conditions d'hygiène pendant la fabrication (personnel, matériel, local).

D'après **Tesone et Quevedo (1978) [100]** le processus technologique de fabrication est hautement concerné par la contamination par les coliformes. Même si un faible taux de ces derniers est retrouvé dans le lait cru utilisé, une multiplication importante peut se produire au cours de l'affinage. En effet, la contamination peut survenir pendant la fabrication, avant que les levains n'acidifient le milieu (destruction des coliformes).

Ceci a été aussi confirmé par **Mourgues et al. (1977)[101]** qui ont annoncé que le nombre de coliformes présents dans le lait de départ est fortement lié à leur nombre en cours de l'affinage.

La régression par contre du taux de coliformes dans le fromage durant sa maturation peut être liée aux différents facteurs qui influent sur le développement microbien et sur les activités enzymatiques. Ces facteurs peuvent être liés à l'environnement, aux paramètres externes mais aussi certains facteurs peuvent être propres au fromage.

Selon **FOX et al.(2000)[13]**, dans un fromage fabriqué à partir de lait cru, la charge en coliformes totaux est diminuée par la réduction de pH et le salage de la masse fromagère.

L'activité acidifiante des microorganismes de départ et la température de stockage fait que le nombre de coliformes diminue durant la maturation (**Letondeur et Lahellec, 2000**).

Les facteurs influençant le développement microbien peuvent se résumer ainsi ;

- **Effet du pH**

Durant toutes les étapes de l'affinage, le pH va avoir un rôle prépondérant. En effet c'est un paramètre fondamental pour la croissance et le développement microbien mais aussi pour les réactions enzymatiques qui s'y jouent.

Le pH optimal pour la croissance de la plus part des bactéries entre autres les coliformes varie entre 6,5 et 7 et la croissance est souvent réduite à des Valeurs de pH de 4,5 à 5) [116].

Parmi les micro-organismes intervenant dans l'affinage, seules les bactéries lactiques, les levures et les moisissures peuvent se développer à des pH inférieurs à 5.

Au démoulage ainsi aux premiers jours d'affinage, le pH du fromage est généralement aux alentours de 4,7 à 4,8, des valeurs suffisantes pour empêcher la croissance des coliformes acido-sensibles.

La diminution du pH peut s'expliquer par l'activité acidifiante des bactéries lactiques qui représentent comme l'a déjà observé **Lenoir (1963)[102]**, la majeure partie de la flore à Gram positif, aussi bien à l'intérieur que sur la croûte des fromages (environ 10^8 UFC/g).

Nôs résultats concordent bien avec les observations de **MISZCZYCHA.,(2013)[117]** qui, dans des conditions expérimentales comparables aux nôtres, ont noté un maximum dans le développement des *E. coli* entéropathogènes à 6h après l'emprésurage, puis une diminution de leur nombre au cours de l'affinage, une diminution d'autant plus rapide que le levain utilisé était plus acidifiant.

En outre, selon **Morou., (2010) [103]** l'absence ou la faible présence de la flore pathogène peut trouver son explication par le fait que la contamination initiale va subir l'effet de l'abaissement du pH et de l'antagonisme des bactéries lactiques. Par ailleurs, leur diminution peut être due aux mauvaises conditions de leur développement causées par le froid.

Samet-Bali et al. (2010)[104] a montré une absence totale des coliformes dans tous les échantillons analysés durant son étude, cela a été justifié par l'activité acidifiante des bactéries lactiques qui inhibe la croissance de la flore indésirable.

Cela est en accord également avec ce qui a été démontré par **Guigma., (1998) [105]**, l'antagonisme des ferments lactiques vis-à-vis des coliformes ne se développe pas immédiatement, mais progressivement. Les coliformes vont se multiplier pendant un certain temps avant que la croissance des bactéries lactiques ne prenne le dessus et ne ralentisse la croissance des coliformes sous l'effet de la production de l'acide lactique qui va jouer sur l'abaissement du pH et éventuellement sur l'augmentation de l'acidité du milieu. (**Voir la figure n°22**).

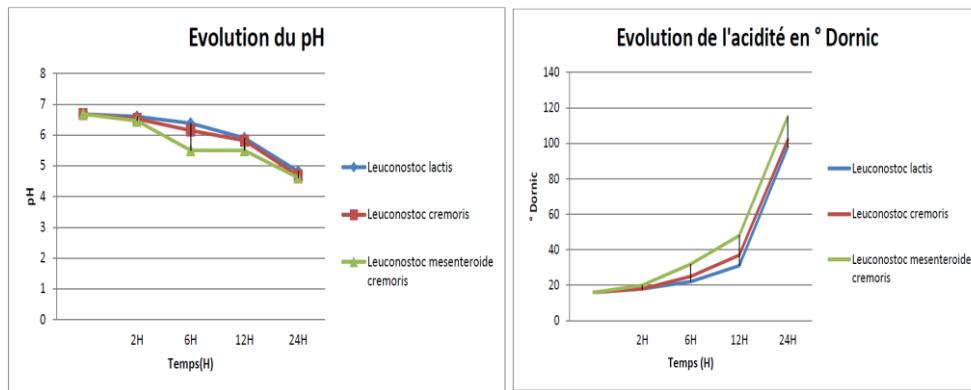


Figure n°22 : pouvoir acidifiant des souches lactiques : évolution du pH et de l'acidité en °Dornic après 24h d'incubation. []

- **aw et le développement microbien**

Tout comme le pH, l'activité de l'eau joue un rôle important pour toutes les réactions et les étapes qui dépendent des microorganismes lors de l'affinage **MISZCZYCHA., (2013)[117]**.

Les bactéries sont très sensibles à l'abaissement de l'activité de l'eau et aucun développement n'a été enregistré en dessous d'une activité de l'eau de 0,85, sauf pour quelques espèces halophiles.

D'après **Gillis (2004) [106] et Hardy(2009)[107]**, la réduction de l'aw dans les aliments a plusieurs conséquences au niveau du développement microbien. Entre autres, la phase de latence des microorganismes est allongée, et une réduction de la vitesse de croissance est alors observée.

En partant de ce principe, la diminution de taux de coliformes durant la maturation peut être expliquée aussi par l'abaissement de l'aw pendant la maturation du fromage qui est dû d'après **Tom et al.,(2001)** à la perte d'eau par évaporation, au salage « sel », à l'hydrolyse des protéines en peptides et les acides aminés, et à l'hydrolyse des triglycérides en glycérol et en acides gras car l'hydrolyse de chaque liaison peptidique ou ester nécessite une molécule d'eau.

Cela est soutenu par le concept d'activité de l'eau (aw) développé par **(Scott., 2006)[108]**, qui a fourni une base pour une augmentation de la relations microbe / eau dans l'aliment.

L'activité de l'eau est directement proportionnelle à la teneur en humidité du fromage et inversement à la concentration de NaCl et d'autres composés de faible poids moléculaire, telles que les petits peptides, les acides aminés, les acides et le phosphate de calcium présents

dans la phase aqueuse. Or, le sel s'avère être le meilleur contributeur à l'abaissement de l'aw des fromages [109].

- **Effet préservateur du sel**

Le salage a plusieurs objectifs ; il assure un complément d'égouttage, peut contribuer à la formation de la croûte et module l'activité de l'eau (aw) qui oriente et freine les développements microbiens et actions enzymatiques au cours de l'affinage, et permet d'accroître le potentiel organoleptique du fromage [109].

- **Phénomènes de compétition**

Chaque lait non traité thermiquement ou physiquement possède une microflore qui lui est propre. Or, la microflore naturelle du lait cru est utilisée lors de la fabrication de fromage ainsi que les ferments ajoutés peuvent eux aussi avoir un impact direct sur la survie des coliformes [110]

Néanmoins, les connaissances relatives aux interactions entre les coliformes et la flore naturelle du lait sont encore très rares [111-112]. Une compétition nutritive et/ou la production de substances antimicrobiennes par ces flores pourraient avoir un effet inhibiteur sur les coliformes.

En ce qui concerne la production de substances inhibitrices, les bactéries lactiques utilisées dans l'industrie alimentaire afin de protéger les aliments, ainsi que celles naturellement présentes, produisent différentes substances comme l'acide lactique, l'acide acétique, le peroxyde d'hydrogène ou même des bactériocines [113].

Maher et al. (2001)[114] ont observé que durant l'affinage d'un fromage à croûte fleurie, une augmentation de la concentration de plus de 2 log₁₀ UFC/g d'une souche *E. coli* O157:H7 artificiellement inoculée au cours des 24 premières heures de fabrication. Au cours de l'affinage, le taux de ce germe a diminué jusqu'à atteindre moins de 1 UFC/g dans la croûte et moins de 10 UFC/g dans la pâte du fromage. Ils ont supposé que cette flore produisait une substance antimicrobienne ayant un effet létale sur *E. coli* O157:H7 au niveau de la croûte du fromage.

Les bactériocines quant à elles sont des peptides connus pour leur effet antimicrobien. L'une de ces bactériocines, la nisine, a été testée sur *E. coli* O157:H7 durant la fabrication et la conservation de Féta et de Camembert[114].

Murdock et al. (2007)[115] ont démontré, *in vitro*, un effet létal sur *E. coli* O157:H7 de la nisine couplée à la lactoferrine. De même, **El-Zineyer et Debevere (1998)** ont observé un effet inhibiteur sur *E. coli* O157:H7 d'une autre bactériocine, la reutérine produite par

Lactobacillus reuteri dans un fromage frais. Ces différents travaux prouvent que les bactériocines peuvent avoir un effet inhibiteur sur les coliformes.

Aussi selon **Ammor et al.(2006)[116]**, 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.

En ce qui concerne les compétitions nutritives, peu de données sont actuellement disponibles pour pouvoir statuer sur ce phénomène. La richesse microbiologique du lait cru tendrait à émettre l'hypothèse d'une forte compétition nutritionnelle entre les différents micro-organismes naturellement présents et les coliformes. [117]

- **Effet de la température**

Les températures au cours de la fabrication et de l'affinage sont variables. De plus, des traitements thermiques peuvent être appliqués au cours de la fabrication de certaines technologies fromagères. **Schlessner et al. (2006)[118]**, ont observé qu'un traitement thermique du lait cru à 64,4 °C pendant 17,5 secondes permettait une réduction de 5 logarithmes décimaux de la concentration d'*E. coli* O157:H7 inoculés artificiellement dans ce lait à un taux de 10⁵ UFC.mL⁻¹.

Dans le cas des fromages au lait cru, les températures usitées pour certaines technologies peuvent avoir des effets différents. En premier lieu, l'étape de coagulation est généralement effectuée à des températures comprises entre 25 et 35 °C en fonction des technologies. Ces températures sont indispensables à l'emprésurage, à la formation du caillé ainsi qu'à la croissance de la flore naturelle du lait et des ferments lactiques. Cependant, la croissance des coliformes peut également être favorisée à ces températures. En effet, la température optimum de croissance d'*E. coli* O157:H7 dans le lait et les produits laitiers se situe aux alentours de 37°C [65-119].

Ils ont aussi noté que ces bactéries pouvaient réparer les dommages subits après un passage dans des conditions optimales (37 °C) tandis qu'un stockage à 7 °C inhibait leur régénération [117].

En conclusion, la température joue un rôle important dans le devenir des coliformes au cours de la fabrication du fromage. Pour les technologies dépourvues d'étape de cuisson, la

température pourrait tour à tour agir comme facteur de croissance puis comme facteur de préservation des coliformes dans le produit [117].

I.2.3.Flore aérobie mésophile totale

Le fromage fabriqué dans notre étude présente une charge bactérienne assez élevée au début d'affinage $9,6.10^5$ UFC/ml, une valeur qui dépasse la norme fixée par le JORA(1998) (10^5 UFC/ml). Mais qui est par contre inférieure en comparaison à des fromages artisanaux marocains qui ont présenté un taux de flore totale de $2,5 \times 10^8$ UFC/ml et à celle noté par (Dahou, 2017)[120] de 28×10^7 UFC/ml.

Le taux élevé de la flore totale pourrait être la conséquence de la qualité microbiologique du lait cru utiliser et aussi le manque de respect des bonnes pratiques de la production [87].

La flore totale d'un fromage à pâte molle peut atteindre au moins 10^8 bactéries /g s'il est fabriqué d'une manière manuelle et en absence d'une réfrigération du lait [121].

En outre, durant la fabrication du fromage, la température du lait puis celle du caillé ($30-35^\circ$ C) permet une multiplication rapide de cette flore.

Selon les résultats représentés par le (tableau n°12), les valeurs de FTAM montrent une diminution remarquable durant l'affinage pour se stabiliser à une valeur $< 10^5$ UFC/ml au 15^{ème} jour d'affinage.

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par Dahou (2017)[120] qui ont noté une décroissance en nombre de FTAM durant les mêmes stades d'analyse (28×10^7 UFC/ml au démoulage et 21×10^7 UFC/ml en fin d'affinage) même s'ils révèlent des valeurs plus importantes que les nôtres.

Cependant, ces valeurs sont assez supérieures à celles trouvées par Rhiat et al. (2011)[122] et Mennane, (2008)[123] avec $0,3 \times 10^5$ et $1,43 \times 10^5$ UFC/ml respectivement, ainsi à ceux rapportés par Afif et al. (2008)[89] avec $3,2 \times 10^5$ UFC/ml.

L'acidification du caillé explique facilement la diminution de la flore totale au cours de la première semaine. Dans l'étape suivante (hâloir à $15-12^\circ$ C pendant 10 jours), ils progressent modérément puis pendant la conservation au froid (pendant 5 jours à 8° C), du fait d'une température insuffisamment élevée, ils se mettent à diminuer. Tout en ajoutant à ça, l'effet de sel et de l'activité de l'eau qui jouent un rôle important dans l'inhibition de la croissance bactérienne comme c'était le cas des coliformes.

Conclusion

Conclusion

Le fromage fabriqué à partir du lait cru renferme une microflore importante par rapport aux fromages fabriqués à partir de lait pasteurisé. Cependant, bien que la croissance de plusieurs bactéries pathogènes soit entravée par des micro-organismes antagonistes appartenant à la communauté microbienne du fromage au lait cru, des contaminants potentiellement pathogènes peuvent ne pas être complètement éliminés ou surviennent après traitement. Il convient donc de s'assurer, par des tests microbiologiques, que le produit va être sain et de bonne qualité marchande tout au long de sa durée de vie.

L'objectif visé par cette étude est d'une part d'évaluer la qualité microbiologique d'un lait cru destiné à la fabrication d'un fromage à pâte molle type Camembert et d'autre part à suivre l'évolution de la flore microbienne de ce fromage durant sa maturation par la culture de quatre groupes bactériens (FTAM, les coliformes totaux, les coliformes fécaux et *staphylococcus aureus*) sur des milieux plus ou moins sélectifs.

Les analyses microbiologiques du lait cru, ont montré une absence totale de *staphylococcus aureus*, par contre une présence de $1,2 \times 10^4$ UFC/ml en coliformes totaux et de 3×10^3 UFC/ml en coliformes fécaux avec une valeur de $5,5 \times 10^5$ UFC/ml en flore totale aérobie mésophile « FTAM ».

Donc, notre produit répond à la norme et ceci conformément à l'arrêté interministériel n°35 du 24/01/98 du journal officiel algérien.

Quant au produit fini « le Camembert », les analyses microbiologiques ont été effectuées aux différents stades : après saumurage, au cours et en fin d'affinage.

Les résultats d'analyse du fromage ont montré après saumurage, des charges assez importantes en coliformes totaux et fécaux (18×10^2 UFC/ml et $12,4 \times 10$ UFC/ml) ainsi qu'en flore totale ($9,6 \times 10^5$ UFC/ml). Par contre, une absence totale de *staphylococcus aureus* durant tous les stades d'analyse. Ces résultats peuvent être expliqués par l'absence de *Staphylococcus aureus* dans le lait cru utilisé au départ pour la fabrication du fromage analysé. Ainsi qu'en absence d'une contamination en ce germe durant le processus de fabrication.

Concernant les coliformes et la FTAM, les charges obtenues peuvent être liées à la charge initiale présente dans le lait cru ou à une contamination survenue au cours de fabrication. (Amhour, 1998)[87].

Par la suite une diminution de la charge microbienne en coliformes ainsi qu'en flore totale a été marquée au fur et à mesure que le fromage s'affine pour atteindre en fin d'affinage

des valeurs $<10^2$ UFC/ml et < 10 UFC/ml pour les coliformes totaux et fécaux respectivement, et une valeur $<10^5$ UFC/ml pour la « FTAM ».

D'après ces résultats, il ressort que notre produit fini (au 15^{ème} jour d'affinage) est de bonne qualité microbiologique et conforme aux normes du journal officiel algérien (10^2 UFC/ml, 10UFC/ml et 10^5 UFC/ml correspondant aux coliformes totaux, fécaux et la flore mésophile totale respectivement).

La régression de la charge microbienne du Camembert en coliformes et en flore totale peut être liée à différents facteurs ; l'activité acidifiante des bactéries lactiques, l'effet de sel et l'*aw* (**mahaut et al., 2000**)[109] et le phénomène d'antagonisme microbien, soit par la compétition nutritive ou par la production des substances antimicrobiennes qui peuvent avoir un effet inhibiteur majeur sur la survie de ces derniers comme l'a expliqué (**Duffy et al., 1999**)[110].

En conclusion, Il est bien établi que même en partant d'un taux de flore bactérienne très faible dans le lait, les populations de coliformes et de la flore totale peuvent atteindre des niveaux très élevés dans les fromages au cours de l'affinage. En revanche, cette flore a tendance à diminuer plus ou moins rapidement au cours de la maturation et de la conservation des fromages au froid.

Différents facteurs peuvent intervenir dans le devenir des coliformes et de la flore totale au cours de la fabrication du fromage. L'acidité, joue un rôle prépondérant sur l'inhibition de la microflore du Camembert notamment aux premiers jours d'affinage. Si les taux de NaCl présents dans le fromage ne semblent ne pas être en mesure d'inhiber les microorganismes précités, la chute de l'*aw* au cours de l'affinage pourrait, elle, avoir un impact sur la survie de ces bactéries. En ce qui concerne les interactions entre ces microorganismes et les autres flores présentes dans le fromage, les connaissances sont encore peu nombreuses et parfois contradictoires.

Mais il est important de rappeler que de multiples barrières sont bien plus efficaces qu'une seule (**Erickson et Doyle, 2007**) [124]. Le fromage est une matrice très complexe, tous ces facteurs interviennent de façon synergique et séquentielle et pourraient ainsi avoir bien plus d'impact sur le devenir des bactéries.

Enfin, ce travail a pu montrer la voie pour qu'un programme de recherche de longue haleine puisse avoir lieu afin de renforcer les résultats obtenus et surtout les approfondir dans le cadre d'un observatoire permettant un suivi rigoureux et individuel.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

- [1] **JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N°35. 1998**, Arrêté interministériel du 27 mai 1998.
- [2] **S. KIRAT**, « Les conditions d'émergence d'un système d'élevage spécialisé en engraissement et ses conséquences sur la Redynamisation de l'exploitation agricole et la filière des viandes rouges bovines - Cas de la Wilaya de Jijel en Algérie ». CIHEAMIAMM, Montpellier(France), pp.13, 2007.
- [3] **AMELLAL R. (1995)**. La filière lait en Algérie : entre l'objectif de la sécurité alimentaire et la réalité de la dépendance. In : Allaya M. (ed). Les agricultures maghrébines à l'aube de l'an 2000. **14**, 2 2 9-2 38.
- [4] **ANONYME, 2017**. Ministère du commerce –Statistiques et bilans- L'importation de lait durant l'année 2016.
<https://www.commerce.gov.dz/statistiques/l-importation-de-lait-durant-l-annee-2016>, page ...
- [5] **M.C. ABDELJALIL**, « Suivi sanitaire et zootechnique au niveau d'élevages de vaches laitières ». Mémoire de Magister en Médecine vétérinaire. Département des sciences vétérinaires. Université de Constantine, 2005.
- [6] **S. EL HASSANI KACIMI**, « La Dépendance Alimentaire en Algérie: Importation de Lait en Poudre versus Production Locale,Quelle Evolution ? Méditerranéen Journal of Social Sciences. MCSER Publishing, Rome-Italy. Vol. 4 N°11, pp.152-158,2013.
- [7] **A. DJERMOUNE, M. BELHADIA, F.CHEHAT ET A. BENCHARI**, «Les formes de coordination entre les acteurs de la filière lait au Niveau de la région de Chélif».NEW MEDITN° 3/2014, pp.39-49 2014.
- [8] **MAURIZIO, A., 1932**. Histoire de l'alimentation végétale de la préhistoire jusqu'à nos jours. Payot, ED, Paris. 647 p.
- [9] **MONTEL M.C, BOUTON Y, PARGUEL P., 2012** .Ecosystèmes des laits et des fromages au lait cru : enjeux pour leur maîtrise .URF INRA 545 F -15000 Aurillac.Renc.Rech .Ruminants, 2012.
- [10] **RAYNAUD S., MORGE S.,PETRIER M., ALLUT G., BARRAL J., ENJALBERT V., REYNAUD C.,MICHEL A., 2016**.Caractérisation des conduites d'affinage à la ferme et étude des liens avec lesParamètres d'ambiance des locaux et la qualité des fromages .Action 1

du projet qualité des Fromages lactiques fermiers locaux et maîtrise de l'affinage. Rapport de fin d'étude collection Résultats de l'institut d'élevage .En cours de publication

[11] **LECLERCQ-PERLAT M.N., 2011.** Cheese: Camembert, Brie and related varieties.In Editor-in-chief: John .WF, editor .Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition).San Diego: Academic Press pp 773-782.

[12] **-ALAIS C, 1975: SCIENCES DU LAIT. PRINCIPES DES TECHNIQUES LAITIÈRES.** 3e édition sepaic, paris 807 p.

[13] **FAO/OMS, 2000:** Codex Alimentarius : Lait et produit laitiers, 2e édition-Rome: FAO; OMS- 136p.

[14]-**ALAIS C, 1984 :** Sciences du lait : Principes des techniques laitières-4e éd- Paris SEPAIC, 814p.

[15] **-MATHIEU J, 1998:** Initiation à la physicochimie du lait. Guides Technologiques des IAA. Edition Lavoisier Tec et Doc, Paris.

[16]-**CIPC Lait Commission Interprofessionnelle des Pratiques Contractuelles (2011).** Avis relatif à la définition et aux méthodes d'analyse de l'acidité du lait n°2011-02.

[17]-**FREDOT, 2006:** Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier.397 p.

[18]-**LUQUET F.M, 1986 :** Lait et les produits laitiers : vache, brebis, chèvre. ED.TEC et DOC. Lavoisier, paris, T3, 445P.

[19]-**JEANTET R; CROGUENNEC T; MAHAUT M ; SCHUCK P ET BRULE G, 2008:** Les produits laitiers, 2^{ème} édition, Tec et Doc, Lavoisier, 185 p.

[20]-**Debry G, 2001:** Lait, nutrition et santé. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris. 566p

[21]-**GAUCHERON F, 2004 :** Minéraux et produits laitiers, Tec et Doc, Lavoisier:783, 922 p.-

[22]-**VIGNOLA C.L, 2002 :** Science et technologie de lait -Transformation de lait ; Ed. Ecole polytechnique de matériel Québec, 600p

[23]- **GOURSAUD F.D, 1985 :** Composition et propriétés physico-chimiques. Dans Lait et produits laitiers vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits de la mamelle à la laitière. Luquet F.M. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris.

- [24]- **BEN YAHIA (2013)**: Extraction de la pepsine et utilisation de la coagulation du lait en vue d'une valorisation des proventricules de volailles au profit de la filière lait en Algérie .Science Alimentaire .Thèse doctorat ,Université Constantine ,119p .
- [25]- **BLOQUEL R. ET VEILLET-PONCET L. (1980)**. Evolution et détermination de la flore bactérienne d'un lait cru réfrigéré paucimicrobien en fonction du temps. Revue Le lait. pp :474-486.
- [26] **AUTY M.A.E., TOWMEY M., GUINEE T.P. AND MULVIHILL, D.M., 2001**. Development and application of confocal scanning laser microscopy methods for studying the distribution of fat and protein in selected dairy products. *J. Dairy Res.*, 68, 417-427.
- [27] **ATLAN D., AUBEL D. ET GILBERT C., 2000**. La biodiversité des bactéries lactiques et les conséquences sur leurs protéinases de surface. *Sci. Aliments*, 230 (1), pp 5-17.
- [28]-**GOY D., HÄNI JP. , WECHSLER D. ET JAKOB E. (2005)**. Valeur de la teneur en caséine du lait de fromagerie. Edition, Agroscope Liebfeld-Posieux. Groupe de discussions Gruyère N°27f .
- [29]. - **POUGHEON S. (2001)**. Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière. Thèse doctorat d'état en médecine vétérinaire, université Paul Sabatier de Toulouse, France.
- [30] - **GRIPON JC., DESMAZEAUD MJ., LE BARS D. ET BERGERE JL. (1975)**. Étude du rôle des microorganismes et des enzymes au cours de la maturation des fromages. Influence de la présure commerciale. *Le Lait* 55.pp: 502-516.
- [31]- **CUQ J.L. (2007)**. Microbiologie Alimentaire. Edition Sciences et Techniques du Languedoc. Université de Montpellier. pp: 20-25.
- [32]. -**GUIRAUD J.P, 1998** : Microbiologie alimentaire, Joseph-Pierre Guiraud Edition DUNOD. Paris, 652p.
- [33]. -**GUIRAUD J.P, 2003** : Microbiologie Alimentaire. Edition DUNOD. Paris. p: 136-139.
- [34]. - **JAKOB E., WINKLER H. ET HALDEMANN J. (2009)**. Critères Microbiologiques Pour La Fabrication Du Fromage. Edition, Agroscope Liebfeld-Posieux. Groupe de discussions N° 77. F. pp :5-31.
- [35]. - **KIM H., HARDY J., NOVAK G., RAMET J.P. ET WEBER W. (1982)**. Les goûts anormaux du lait frais et reconstitué. Collection FAO Alimentation et nutrition n°35.

[36]. HEUCHEL V., CHATELIN Y.M., BREAU S., SOBOLEWSKI F., BLANCARD N., BARATON Y., AYERBE A. (2003). Lipolyse du lait de vache et qualité organoleptique des produits laitiers. Renc. Tech. Ruminant n°10, pp : 223-226.

[37]. BENDAROUICH B. (2009). La Kémaria : un produit de terroir à valoriser. Mémoire de fin d'étude, en vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en sciences agronomiques, Ouargla, 105 pages.

[38] WALTHER B, SCHMID A, SIEBER R ET WEHRMULLER K. (2008). Cheese in nutrition and health. *Dairy Sci. Technol.* 88, 389–405.

[39] ECK A ET GILLIS JC. (2006). Le fromage. 3ème Edition : Tec et Doc, Lavoisier. Paris. 891p

[40] AIT ABDELOUAHAB N. (2001). Microbiologie alimentaire. Edition : Office Des Publications Universitaires. Ben-Aknoun. Alger. 147p.

[41] .MAMI A. (2013). Recherche des bactéries lactiques productrices de bactériocines à large spectre d'action vis-à-vis des germes impliqués dans les toxi-infections alimentaires en Algérie. Thèse de doctorat, Oran, 161 pages.

[42] DRIRER D ET PREVOST H. (2009). Bactéries lactiques (physiologie, Métabolisme, Génomique et Applications industrielles), édition ECONOMICA, France, 577 pages.

[43] GUIRAUD JOSEPH .PIERRE ET ROSEC JEAN. PHILIPPE. (2004). Pratique des normes en microbiologie, édition AFNOR, France. 300 pages.

[44] SOUID W. (2011). Effet des bactériocines (type nisine) produites par une souche lactique isolée à partir du fromage Camelin sur une souche psychrotrophe, mémoire de magister en microbiologie appliquée, Université Ouargla, 66 pages.

[45] GAÛZERE Y., 2009. les flores de surface et d'affinage. Intervention aux journées techniques de l'ENILBIO Poligny <<20 ans de formation et d'accompagnement au service des producteurs fromagers fermiers>> du 21 et 22 avril 2009. 46 diapositives

[46] TORMO H. (2010) .Diversité des flores microbiennes du lait cru de chèvre et facteurs de variabilité .Thèse en vue de l'obtention du doctorat de l'université de Toulouse, 238 pages.

[47] LEVEAU J.Y. et BOUIX M., 1993 : Microbiologie industrielle : les microorganismes d'intérêt industriel. TEC & DOC –Lavoisier, APRIA, Paris, pages : 71, 153, 154 et 307.

[48] HERMIER J ET LENOIR J ET WEBER F. (1992). Les groupes microbiens d'intérêt laitier .Edition CEPIL, Paris, 568 pages.

- [49] **FREDOTE. (2005).** Connaissance des aliments –Bases aliments et nutritionnelles de la diététique .Paris, London, Newyork, Edition TEC et DOC, 397 pages.
- [50].**DEBBAKH H et HAMADA I.(2014).**synthèse bibliographique sur la microflore du fromage. Mémoire de licence, en Microbiologie fondamentale et appliquée, Ourgla, 59 pages.
- [51]. **ANONYME 3. (2011). Institut de l'élevage.** Microflore du lait cru, réalisé dans le cadre du RMT ;(Filières fromagères valorisant leur terroir).
- [52] **BRULE G., LENOIR J. et RAMET J.P., 1997.** Les mécanismes généraux de transformation du lait en fromage, chapitre I, la micelle de caséine et la coagulation du lait. Pp. 7 à 39. Dans le fromage. Coord. ECK A., et GILLIS J.C. 3ème édition Tec et Doc. Lavoisier. 875 P.
- [53] **CAUDRILLIER J.R.G. (2008).** Evaluation et validation des traitements thermiques appliques a une gamme de matériels et de milieux de culture. Thèse de doctorat en médecine vétérinaire, école nationale vétérinaire d'Alfort.
- [54] **GASTALDI-BOUABID E., 1994.** Etude de l'évolution des micelles de caséine au cours De l'acidification : mise en évidence d'un état de transition entre pH 5.5 et pH 5.0 - Thèse Doctorat Académie de Montpellier. Université de Montpellier II.
- [55] **MADJI A. (2009).** Séminaire sur les fromages AOP ET IGP.INAT. Tunisie.
- [56] **LECLERCQ-PERLAT M. N., PICQUE D., RIAHI H. AND CORRIEU G. 2006.** Microbiological and Biochemical Aspects of Camembert-Type Cheeses Depend on Atmospheric Composition in the Ripening Chamber. *Journal of Dairy Science* 89(8): 3260-3273.
- [55]**ALAIS C. et LINDEN G., 1997.** Abrégé de biochimie alimentaire. 4ième éd. , Masson, 248 p.
- [57] **BENNETT R.J. and JOHNSTON K.A., 2004.** General Aspects of Cheese Technology. Pp 23-50. In *Cheese Chemistry, Physics and Microbiology. Volume 2 Major Cheese Groups.* Third edition, Ed. P.F. FOX, P.L.H. MCSWEENEY, T M. COGAN and T.P. GUINEE. AMSTERDAM. 434p.
- [58] **CHOISY C., DESMAEAUD M., GUEGUEN M., LENOIR J., SCHMIDT J., et TOURNEUR C., 1997 (b).** Les phénomènes microbiens, Dans *Le fromage* (Coord. ECK A. et GILLIS J.C.), 3ème ed., Tec et Doc. Lavoisier. pp 377
- [59] **DESMAZEAUD M. ET COGAN T.M. 1996.** Role of cultures in cheese ripening. In: *CoganT.M.,Accolas J.P (Eds.), Dairy Starter Cultures. VCH Publishers, Inc., New York.* pp. 207-231.

- [60] **CHAMPAGNE CP, SOULIGNAC L, MARCOTTE M , INNOCENT J-P ,2003** Texture et evolution du Ph de fromages de type Brie entreposés en atmosphere controlee . Lait 83: 145-151
- [61] **Callon C., Millet L., Montel M.C. 2004.**Diversity of lactic acid bacteria isolated from AOC Salers cheese .Journal of Dairy Research 71,231-244.
- [62] **LEFRILEUX Y., PICQUE D., MIRADE P.S, GAUZERE Y., LECLERCQ-PERLAT M.N.,GUILLEMIN H., SAINT-EVE A., AUBERGER J.M., 2016.**Expérimentations sur l’affinage de fromages lactiques fermiers au lait de chèvre.Action 2 du projet “qualité des fromages fermiers lactiques locaux et maîtrise de l’affinage:Rapport de fin d’étude collection résultats de l’institut d’élevage .En cours de publication.
- [63] **UPADHYAY VK, MCSWEENEY PLH, MAGBOUL AAA, FOX PF, 2004 .** Proteolysis in cheese during ripening In : Fox PF, McSweeney PL, Cogan TM, Guinee TP, editors, Cheese :Chemistry , Physics and Microbiology : Academic Press.pp.391-433.
- [64] **AL OTAIBI M .M AND WILBEY A , 2004.** Effects of temperature and salt on maturation of white-salted cheese . International Journal of Dairy Technology 57; 57-63
- [65] **MONTEL M.C., BUCHIN S., MALLET A., DELBES-PAUS C., VUITTON D., DESMASURES N.,BERTHIERF., 2014 .** Traditional cheeses : Rich and diverse microbiota with associated benefits. Int.J.of food microbiology 177 (2014) :136-154.
- [66] **PRADAL M. (2012).** Transformation fromagère caprine fermière, Lavoisier.
- [67]/**COGITORE A., (1987).** Traité pratique de la reglementation laitière. 3ième éd., 240-252, les sapins d’or, Paris. (1987).
- [68] **BENLOUCIF R et OULMI A., 2017 :** Etude du procédé de production du fromage type Camembert : effet de la nature des microorganismes sur la qualité du produit. Mémoire de master, bioindustrie, analyse et contrôle : Université des Frères Mentouri Constantine 1, 76 pages.
- [69] **RICHARD, J. ET H. ZADI (1983).** Inventaire de la flore bactérienne dominante des Camemberts fabriqués avec du lait cru, *Lait*, 63(623-624):25-42.
- [70] **SOUSA, M.J. (2003).** Cheeses | Surface mold-ripened cheese varieties, dans *Encyclopedia of food sciences and nutrition (Second edition)*, B. Caballero (ed.), Academic Press, Oxford, pages 1122-1129.

- [71] **MCSWEENEY, P.L.H.** (2004). **BIOCHEMISTRY OF CHEESE RIPENING**, *International journal of dairy technology*, 57(2- 3):127-144.
- [72]**SPINLER, H.E. ET J.C. GRIPON** (2004). Surface mould-ripened cheeses, dans *Cheese: chemistry, physics and microbiology*, Vol, 2, P.F. Fox, P.L.H. McSweeney, T.M. Cogan et T.P. Guinee (eds.), Academic Press, pages 157-174.
- [73] **SCHLESSER, J.E., S.J. SCHMIDT ET R. SPECKMAN** (1992). Characterization of chemical and physical changes in Camembert cheese during ripening, *Journal of dairy science*, 75(7):1753-1760.
- [74] **MOLIMARD, P. ET H.E. SPINLER** (1996). Review: compounds involved in the flavor of surface mold-ripened cheeses: origins and properties, *Journal of dairy science*, 79(2):169-184.
- [75] **THOMAS T.D and MILLS O.E.** (1981). Proteolytic enzymes of dairy starter cultures. *Microbiological Review*, 46, 425.
- [76] **DEZMAZEAUD M. et GRIPON J.C.; LE BARS D. et BERGERE J.L.** (1976). Etude du rôle des micro-organismes et des enzymes au cours de la maturation des fromages ; III- Influence des micro-organismes. *Lait*, 56, 379.
- [77] **SCHMIDT, J.,L., J. LENOIR, M. SCHMIDT, T. LUU ET C. GRAFFARD** (1978). Contribution à l'étude de la flore levure du fromage de Camembert. Son évolution au cours de la maturation, *Lait*, 58(577):355-370.
- [78] **SCHMIDT, J.,L., J. LENOIR ET M. SCHMIDT** (1980). Contribution à l'étude de la flore levure du fromage de Camembert (II), *Lait*, 60(595-596):272-282.
- [79]**SUTRA L., FEDERIGHI M. ET JOUVE J.L.** (1998). Manuel de bactériologie alimentaire. Edition Polytechnica. 9p.
- [80] **LECLERCQ-PERLAT, M.N., F. BUONO, D. LAMBERT, E. LATRILLE, H.E. SPINLER ET G. CORRIEU** (1998). Controlled production of Camembert-type cheeses. Part I: Microbiological and physicochemical evolutions, *The Journal of dairy research*, 71(3):346-354.
- [81]**AKLI B** , 2011 Analyse physico-chimique et microbiologique de lait UHT demi-écrémé .Centre de formation professionnelle El Hidhab Sétif Algérie -BTS en contrôle de qualité dans les industries agroalimentaire UNAM ,PP .1-36
- [82] **LEYRAL G. ET VIERLING É.** (2007). Microbiologie et toxicologie des aliments: hygiène
- [83] **GUINOT THOMAS P. AMMOURY M. ET LAURENT F.** (1995). Effects of storage conditions on the composition of raw milk. *International Dairy Journal* N° 5. pp: 211-223.

[84] LABIOUI H., ELMOUALDI L., BENZAKOUR A., YACHIOUI M.E.L., BERNY E., ET OUHSSINE M., 2008. Etude physico-chimique et microbiologique des laits de vache crus , Bull. Soc. Pharm. Bordeaux .(148) : 7-16.

[85] ATLAN D., AUBEL D. et GILBERT C., 2000. La biodiversité des bactéries lactiques et les conséquences sur leurs protéinases de surface. *Sci. Aliments*, 230 (1), pp 5-17.

[86] AGGAD H., MAHOUZ F., AHMED AMMAR Y. ET KIHAL M. (2009). Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien. *Revue Méd. Vét.*, 160, 12. pp :590-595.

[87] AMHOURI, F., SAID B., HAMAMA, A. ET ZAHAR M. (1998). Qualité microbiologique du lait cru: Cas de la région d'Errachidia. *Actes Inst. Agron. Vet. (Maroc)* 18 (1). pp : 31-35.

[88] OUADGHIRI M. (2009). Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés «L'ben» et «J'ben» d'origine marocaine, thèse de doctorat en Microbiologie et Biologie Moléculaire. Université Mohammed V–agdal Faculté des sciences Rabat, Maroc. pp 26-28 -132.

[89] HAMAMA A. (1992). Moroccan Traditional Dairy Products. In applications of Biotechnology to traditional fermented foods. National Research Council. National Academy Press, Washington D.C. 75-80.

[90] THIEULON M. (2005). Lait pathogènes staphylocoques. *Revue de la chambre d'agriculture du Cantal.* pp :1-2.

[91] KOUAME-SINA SM, BASSA A, DADIE A, MAKITA K, GRACE D, DJE M ET BONFOH B. (2010). Analyse des risques microbiens du lait cru local à Abidjan (Côte d'Ivoire). *Revue Africaine de Santé et de Productions Animales.* **8 (3)**,62-71.

[92] MOCQUOT G. et GUITTONNEAU G. (1939). Recherches sur la pasteurisation des laits de consommation sur la colimétrie appliquée au contrôle de la pasteurisation des laits et des laits pasteurisés. *Le lait* n°182. pp 114-139.

[93] Heuchel V., Meffe N. (2000). Origine et moyens de maîtrise à la production de la contamination du lait de vache par les salmonelles. (Dossier 97/04-2 : Maîtrise de la contamination du lait par les salmonelles). Rapport final de l'institut d'élevage juillet 2000. pp : 1-26.

[94] HURTAUD C., BUCHIN S., MATIN B., VERDIER-METZ I., PEYRAUD J.L ET NOËL Y. (2001). La qualité des laits et ses conséquences sur la qualité des produits de transformation : quelques techniques de mesure dans les essais zootechniques. Renc. Rech. Ruminants, n°8.pp: 35-42.

[95] KOUAME-SINA SM, BASSA A, DADIE A, MAKITA K, GRACE D, DJE M ET BONFOH B. (2012). Analyse des risques microbiens du lait cru local à Abidjan (Côte d'Ivoire). Revue Africaine de Santé et de Productions Animales. **8 (3)**,62-71.

[96] LARPENT J.P. (1990). Lait et produits laitiers non fermentés. Dans Microbiologie alimentaire. (Bourgeois C.M., Mescle J.F.et Zucca J.) Tome 1: Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité alimentaire. Edition Tec et Doc. Lavoisier. pp 201-215.

[97] MAGNUSSON M., CHRISTIANSSON ET SVENSSON B. (2007). Bacillus cereus spores during housing of dairy cows: factor affecting contamination of raw milk . journal of dairy science. n° 90. pp: 2745-2754

[98] Mise au point de méthodes d'analyse permettant de caractériser l'impact, sur les qualités organoleptiques d'un fromage de type pâte molle-croûte fleurie, de l'association d' *Hafnia alvei* à des ferments d'aromatisation. Thèse Doctorat université de Tour. 215p.

[99] Critères Microbiologiques Pour La Fabrication Du Fromage. Edition, Agroscope Liebfeld-Posieux. Groupe de discussions N° 77. F. pp :5-31.

[100] TESONE S ET QUEVEDO F. (1978). Contrôle microbiologique du fromage. I. Fromage à pate molle. *HAL*. 58, 571-572.

[101] MOURGUES R., VASSAL L., AUCLAIR J. ET MOCQUOT G. (1977). Origine et développement des bactéries coliformes dans les fromages à pâte molle. Mémoires originaux. Le lait N°563-564. pp : 131-149.

[102] LENOIR J. (1963). La flore microbienne du camembert et son évolution au cours de la maturation. *C, R. Acad. Ayr.* 48, n°8, 392.

[103] Caractérisation physico-chimique et microbiologique du fromage traditionnel algérien *Bouhezza* de ferme et de commerce (wilaya de Batna et de kenchela). *Mémoire d'ingénieur, INATAA*, Université Mentouri de Constantine. 67p.

[104] SAMET-BALLI O., BELLILA A., AYADI M-A., MARZOK B. and ATTIA H. (2010). A comparison of the physicochemical, microbiological and aromatic composition

of Traditional and Industrial Leben in Tunisia. *Int. J. of Dairy Technol.*, 63 (1), 98-104.

[105] **GUIGMA, T.P., FOX, P.F.**, 2004. Salt in cheese: physical, chemical and biological aspects. Dans: Fox, P.F., McSweeney, P.L.H., Cogan, T.M., Guinee, T.P. (Eds.), *Cheese: chemistry, physics and microbiology - Volume I: general aspects*. 3ème éd. Academic Press, Ireland, pp. 207-259.

[106] **GILLIS, J.-C.**, 2004. Manuel du salage en fromagerie - Théorie et pratiques. Arilait Recherches, Paris, France, 69 pages.

[107] **HARDY J. et SCHER J.**, 2009. Les propriétés physiques et organoléptiques du fromage.1. Propriétés physiques. Pp. 479-492. In le fromage, de la science à la'assurance qualité.(Coord. A. ECK et J.C. GUILKLIS), 3ème ed. Tec et Doc. Lavoisier, 891p.

[108] Scott, L., McGee, P., Sheridan, J. J., Earley, B. & Leonard, N. (2006). A comparison of the survival in feces and water of *Escherichia coli* O157:H7 grown under laboratory conditions or obtained from cattle feces. *J Food Prot* 69, 6–11.

[109] **MAHAUT M, JEANTET R ET BRULE G.** (2000). Initiation à la technologie fromagère. Edition :Tec et Doc, Lavoisier. Paris.194p.

[110] **DUFFY, G., WHITING, R. C. & SHERIDAN, J. J.** (1999). The effect of a competitive microflora, pH and temperature on the growth kinetics of *Escherichia coli* O157:H7. *Food Microbiology* 16, 299–307.

[111] **ATTIA H., KHERONATOU N. et AYADI J.**, 2000. Acidification chimique directe dulait. Corrélations entre la mobilité du matériel micellaire et micro et macrostructure des laits acidifiés. *Sci. des aliments*, 20, 289-307.

[112] **LEE, K.-I., WATANABE, M., SUGITA-KONISHI, Y., HARA-KUDO, Y. & KUMAGAI, S.** (2012). *Penicillium camemberti* and *Penicillium roqueforti* Enhance the Growth and Survival of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* O157 under Mild Acidic Conditions. *Journal of Food Science* 77, M102–M107.

[113] **DE VUYST, L. & VANDAMME, E. J.** (1992). Influence of the carbon source on nisin production in *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* batch fermentations. *J Gen Microbiol* 138, 571–57

[114] **MAHER, M. M., JORDAN, K. N., UPTON, M. E. & COFFEY, A.** (2001). Growth and survival of *E. coli* O157:H7 during the manufacture and ripening of a smear-ripened cheese produced from raw milk. *J Appl Microbiol* 90, 201–207.

[115] Murdock, C. A., Cleveland, J., Matthews, K. R. & Chikindas, M. L. (2007). The synergistic effect of nisin and lactoferrin on the inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7. *Lett Appl Microbiol* 44, 255–261.

[116] **AMMOR S., TAUVERON G., DUFOR E. ET 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** : 454-461.

[117] **MISZCZYCHA, S. D., PERRIN, F., GANET, S., JAMET, E., TENENHAUS-AZIZA, F., MONTEL, M.-C. & THEVENOT-SERGENTET, D. (2003).** Behavior of different Shiga-toxin producing *Escherichia coli* (STEC) serotypes in various experimentally contaminated raw milk cheeses. *Appl Environ Microbiol*. 79 (1), 150-158.

[118] **Schlessler, J. E., Gerdes, R., Ravishankar, S., Madsen, K., Mowbray, J. & Teo, A. Y. L. (2006).** Survival of a five-strain cocktail of *Escherichia coli* O157:H7 during the 60-day aging period of cheddar cheese made from unpasteurized milk. *J Food Prot* 69, 990–998.

[119] Wang, G., Zhao, T. & Doyle, M. (1997). Survival and growth of *Escherichia coli* O157:H7 in unpasteurized and pasteurized milk. *Journal of Food Protection Volume 60, Issue 6, 1997, Pages 610-613.*

[120] **DAHOU A.E.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, Production et Biotechnologie Animales : Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem, 92 pages.

[121] **RICHARD J. (1983).** Nature de la flore microbienne dominante et sous-dominante des laits crus très pollués. *Le lait* n°63.pp: 148-170.

[122] **RHIAT MOHAMMED et HICHAM LABIOUI. ABDELHAK DRIOUICH, MAHJOUB AOUANE. YOUNESS CHBAB. ABDELHAK DRIOUICH. ZAKARIA MENNANE et MOHAMMED OUHSSINE. (2011).** Étude bactériologique comparative des fromages frais marocains commercialisés (Mahlabats) et des fromages fabriqués au laboratoire de Biotechnologie, Environnement et Qualité, Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofaïl , BP 133, 14000 Kenitra, Maroc.

[123] MENNANE Z., OUHSSINE M., KHEDID K. ET ELYACHIOUI M. (2007). Hygienic quality of raw cow's milk feeding from waste in two regions in Morocco. International journal of agriculture and biology. Vol.9, n°1. pp: 46-48.

[124] RAMET J.P., 1985. La fromagerie et les variétés de fromages du bassin méditerranéens. Ed. Etude FAO. Production et santé animale, 187 P.

Annexe

Annexe I : les milieux de culture utilisés lors de notre étude [68]

1. Gélose lactosée au désoxycholate

➤ Domaine d'utilisation

La gélose lactosée au désoxycholate est un milieu sélectif utilisé pour le dénombrement des bactéries coliformes dans les eaux, le lait, les produits laitiers et les autres produits alimentaires. Ce milieu est également employé pour la différenciation et l'isolement des entérobactéries à partir des prélèvements d'origine animale.

➤ Principes

L'inhibition des microorganismes à Gram positif est essentiellement due à l'action du désoxycholate de sodium, bien que le citrate de sodium soit également un inhibiteur efficace.

- La différenciation des entérobactéries est fondée sur la capacité de ces germes à fermenter le lactose. Les microorganismes lactose-positif produisent une acidification qui, en présence de rouge neutre, se manifeste par l'apparition de colonies rouges. Les germes lactose-négatif donnent des colonies incolores (*Salmonella* et *Shigella*).

➤ Composition théorique

(pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu :

❖ Peptone pepsique de viande	10,00 g
❖ Lactose	10,00 g
❖ Désoxycholate de sodium.....	0,50 g
❖ Chlorure de sodium.....	5,00 g
❖ Citrate de sodium.....	2,00 g
❖ Rouge neutre	0,03 g
❖ Agar bactériologique.....	15,00

PH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : $7,1 \pm 0,2$.

➤ Préparation

- ❖ Mettre en suspension 42,5 g de milieu déshydraté (BK065) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- ❖ Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- ❖ Ne pas autoclaver.

2. Gélose pour dénombrement (PCA)

➤ Domaine d'utilisation

La gélose glucosée à l'extrait de levure, appelée par les Anglo-Saxons "Plate Count Agar" ou PCA, est utilisée en bactériologie alimentaire pour le dénombrement des bactéries aérobies psychotropes, mésophiles dans le lait, les viandes, les produits à base de viande, les autres produits alimentaires, ainsi que pour l'analyse des produits pharmaceutiques, des produits cosmétiques et de leurs matières premières.

➤ Principe

Les substances nutritives apportées par la Tryptone, les facteurs vitaminiques de l'extrait de levure et le glucose (source énergétique) favorisent la croissance de la plupart des bactéries à dénombrer.

➤ Composition théorique

(pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu :

- ❖ Tryptone.....5,0 g
- ❖ Extrait autolytique de levure.....2,5 g
- ❖ Glucose.....1,0 g
- ❖ Agar agar bactériologique.....12,0 g

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

➤ Préparation

- ❖ Mettre en suspension 20,5 g de milieu déshydraté (BK144) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- ❖ Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- ❖ Répartir en tubes ou en flacons.
- ❖ Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

3. Chapman - mannitol salt agar

➤ **Domaine d'utilisation**

La gélose Chapman - Mannitol Salt Agar est un milieu sélectif pour l'isolement et la numération des staphylocoques. Il permet également de différencier les espèces fermentant le mannitol de celles qui ne le fermentent pas.

➤ **Principe**

La sélectivité de ce milieu est basée sur la présence de chlorure de sodium qui inhibe la plupart des bactéries à Gram (+) et à Gram (-). La différenciation des Staphylocoques est basée sur leur capacité à fermenter ou non le mannitol. S'il y a fermentation, cela induit une acidification qui entraîne une coloration jaune du milieu en présence de rouge de phénol (indicateur de pH).

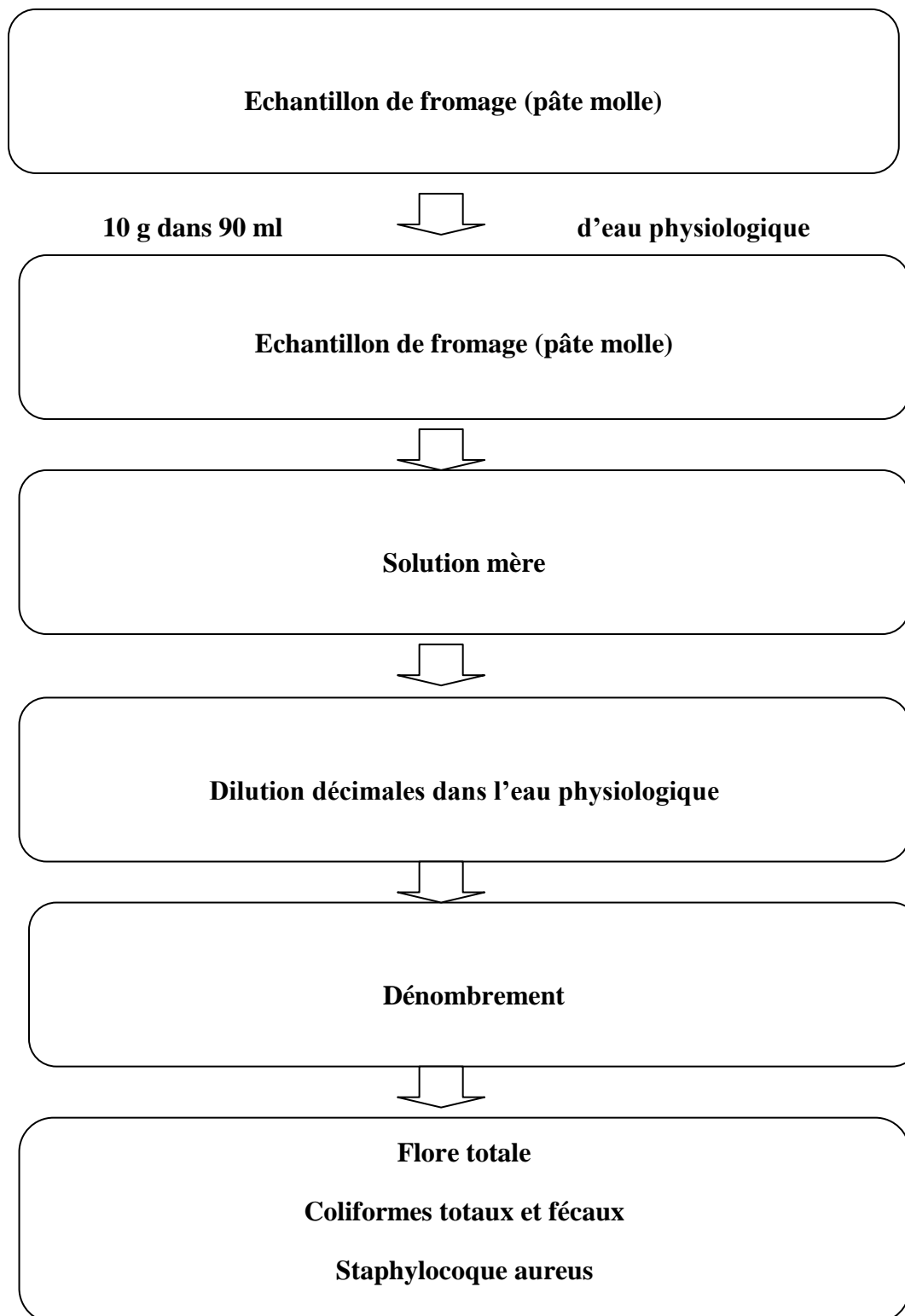
➤ **Composition théorique (en g/l d'eau distillée)**

Le milieu Chapman - Mannitol Salt Agar est préparé selon la formule décrite par Chapman (1).

- ❖ Peptone 10
- ❖ Extrait de viande de bœuf 1
- ❖ Chlorure de sodium 75
- ❖ Mannitol 10 μ
- ❖ Rouge de phénol 0.025
- ❖ Agar 15
- ❖ pH final : 7.4 \pm 0.2

➤ **Préparation du milieu :**

- ❖ Homogénéiser la poudre contenue dans le flacon.
- ❖ Mettre 111 grammes de milieu déshydraté dans un litre d'eau distillée stérile. Mélanger jusqu'à obtention d'une suspension homogène.
- ❖ Chauffer lentement en agitant fréquemment, puis porter à ébullition jusqu'à dissolution complète.
- ❖ Stériliser à l'autoclave à 121° C pendant 15 minutes. Répartir en boîtes de Pétri ou en flacons.

Annexe II La préparation des dilutions décimales**1. Schéma général de l'analyse microbiologique des fromages type camembert****Figure.** Schéma général de l'analyse microbiologique des fromages type camembert

2. différentes dilutions appropriées aux analyses microbiologiques effectuées (lait cru et le camembert)

1ml de la solution mère + 9ml d'eau physiologique \longrightarrow dilution 10^{-1}

1ml de dilution 10^{-1} + 9ml d'eau physiologique \longrightarrow dilution 10^{-2}

1ml de dilution 10^{-2} + 9ml d'eau physiologique \longrightarrow dilution 10^{-3}

1ml de dilution 10^{-3} + 9ml d'eau physiologique \longrightarrow dilution 10^{-4}

1ml de dilution 10^{-4} + 9ml d'eau physiologique \longrightarrow dilution 10^{-5}

Résumé

Notre travail a porté sur l'étude de l'évolution de la charge microbienne au cours de l'affinage d'un fromage à pâte molle à croûte fleurie fabriqué à partir d'un lait cru. cinq échantillons ont fait l'objet de nos investigations. Ces derniers ont été analysés au niveau du laboratoire de la laiterie LA VALLEE, Tazmalt (Bejaïa) selon les normes algériennes fixées par le JORA (1998).

Les tests microbiologiques avaient pour objectif la recherche et dénombrement de quatre groupes microbiens : flore totale aérobie mésophile, coliformes totaux, coliformes fécaux et *Staphylococcus aureus*.

Les résultats de ces analyses, ont montré une régression considérable en charge microbienne en allant du premier au dernier stade d'affinage (J+1, J+15) : la charge microbienne en FTAM a passé d'une valeur de $9,6 \times 10^5$ UFC/ml à une valeur $< 10^5$ UFC/ml et celle des coliformes totaux et les coliformes fécaux de 18×10^2 UFC/ml à une valeur $< 10^2$ UFC/ml et de $12,4 \times 10$ UFC/ml à une valeur < 10 UFC/ml respectivement ; ces valeurs ne dépassent pas les normes requises par le journal officiel algérien, et nous avons noté l'absence totale des germes pathogènes (*Staphylococcus aureus*).

Ces résultats indiquent que le produit ; fromage à pâte molle est considéré de très bonne qualité de point de vue microbiologique à travers son procédé de fabrication.

Mots clés : évolution, charge microbienne, affinage, fromage à pâte molle à croûte fleurie, lait cru.

Summary

Our work focused on studying the evolution of microbial load during the ripening of a soft cheese with a rind made from raw milk. Five samples were the subject of our investigations. These were analyzed at the dairy laboratory LA VALLEE, Tazmalt (Bejaia) according to Algerian standards set by JORA (1998).

The objective of the microbiological tests was to search and enumerate four microbial groups: total aerobic mesophilic flora, total coliforms, fecal coliforms and *Staphylococcus aureus*.

The results of these analyzes, showed a considerable regression in microbial load going from the first to the last ripening stage (D + 1, D + 15): the microbial load in FTAM has increased from a value of 9×10^5 CFU / ml to a value $< 10^5$ CFU / ml and that of total coliforms and fecal coliforms from 18×10^2 CFU / ml to $< 10^2$ CFU / ml and 12×10 CFU / ml at < 10 CFU / ml respectively; these values do not exceed the standards required by the Algerian official newspaper, and we noted the complete absence of pathogenic germs (*Staphylococcus aureus*).

These results indicate that the product; Soft cheese is considered of very good quality from a microbiological point of view through its manufacturing process.

Key words: evolution, microbial load, ripening, soft cheese with a rind of flowers, raw milk.

ملخص

ارتكز عملنا على دراسة تطور الحمولة الميكروبية أثناء نضج جبنة من نوع الكاموبير مصنوعة من حليب البقر الخام، خمس عينات كانت موضوع تحقيقاتنا. وقد تم تحليلها في مختبر الألبان لا فالي ، (تازمالت بجاية) وفقا للمعايير الجزائرية التي وضعتها الجريدة الرسمية للجمهورية الجزائرية (1998) .

كان الهدف من الاختبارات الميكروبيولوجية هو البحث والتعداد لأربع مجموعات جرثومية: مجموع النباتات الفلزية الهوائية للميكروبات ، القولونيات الكلية ، القولونيات البرازية والمكورات العنقودية الذهبية.

أظهرت نتائج هذه التحاليل انخفاضا ملحوظا في الحمولة الميكروبية من أول مرحلة إلى آخر مرحلة النضج (J + 1 ، J + 15): ارتفعت نسبة الحمل الميكروبي في مجموع النباتات الفلزية الهوائية من قيمة 9.6×10^5 بيكتيريا / مل إلى قيمة $> 10^5$ بيكتيريا / مل ومن مجموع القولونيات والكوليفورم البرازي من 18×10^2 بيكتيريا / مل بقيمة $> 10^2$ بيكتيريا / مل و 12.4×10 بيكتيريا / مل على التوالي، هذه القيم لا تتجاوز المعايير المطلوبة من قبل المجلة الرسمية الجزائرية ، ولاحظنا الغياب التام للجراثيم المسببة للأمراض (*Staphylococcus aureus*).

هذه النتائج تشير إلى أن المنتج (الجبنة الطري) ذو نوعية جيدة جدا من وجهة نظر الميكروبيولوجية من خلال عملية التصنيع الخاصة بها.

الكلمات المفتاحية: التطور ، الحمولة الميكروبية ، النضج ، الجبن الطري (الكاموبير)، الحليب الخام.