



**UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID TLEMEN**  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE DE LA TERRE ET DE  
L'UNIVERS

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire, au biomédical et à  
l'environnement  
« LAMAABE »

**Mémoire de MASTER**

Présenté par  
**ZALEGH ASMA**

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie  
Option : Microbiologie

**Caractérisation des bactéries lactiques isolées du « jben »  
traditionnels préparé par des coagulant d'origine animal  
« Hakka »**

Soutenu le 03/07/2017

Devant le jury :

<b>Dr. Boublenza L.</b>	<b>Maître de conférences A</b>	<b>Président</b>
<b>Dr. Bellifa S.</b>	<b>Maître de conférences B</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>Dr. Bendimerad N.</b>	<b>Maître de conférences B</b>	<b>Encadreur</b>

**Année Universitaire : 2016-2017**

## **Remerciement**

*Nous tenons tout d'abord à remercier Allah le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.*

*Nos sincères remerciements s'adressent à notre encadreur **Mme NAHIDA BENDIMERAD** maitre-conférence « B » à l'université de Tlemcen, pour sa grande disponibilité, son écoute et son suivi tout au long de ce travail. Ainsi que pour sa patience et sa compréhension des situations diverses et variées tout au long de l'élaboration de ce travail.*

*Mes remerciements sont adressés également aux membres du Jury qui ont prissur leur temps et ont bien voulu accepter de juger ce modeste travail : Je tiens à exprimer ma très grande considération, et mon profond respect à Mme **BOUBLENZIA LMIA**, qui m'a fait l'honneur de présider ce Jury malgré toutes ses responsabilités et ses nombreuses occupations.*

*l m'est agréable de remercier **Mme BELLIFA SAMIA** d'avoir accepté d'examiner ce présent travail.*

*Je remercie également **Mme BOUMEDIENE KARIMA** pour son concours précieux à un moment sensible du déroulement de ma partie expérimentale.*

*Un mes remerciements spécial et chaleureux vont aux : **MEDJAHDI KHADIDJA** doctorante au (LAMAABE) et membre l'ER « Sécurité microbienne des aliments ».*

*Pour finir, je remercie aussi tous mes enseignants et toutes les personnes qui ont contribués de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.*

# *Dédicace*

*Je dédie ce mémoire*

*A mon très cher père, Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon  
éducation et mon bien être,*

*À la plus belle créature que Dieu a créée sur terre, À cette source de tendresse, de patience et  
de générosité, À ma mère !*

*Ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour moi*

*A mon cher mari "DEROUSSI Dj "*

*A ma très chères sœur "Fatima" et son mari "Hicham Z" et leurs petits "Bahaa Eddine" et  
"Iyade"*

*A mes très chères sœurs "Romayssa" et "Meryem" Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux  
de bonheur, de santé et de réussite.,*

*A tous la famille "ZALEGH "*

*A mes camarades*

*A tous mes enseignants depuis mes premières années d'études et spécialement pour mon  
encadreur M<sup>m</sup> BENDIMRAD Nahida*

*A tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer... A tous ce qui me sent chers  
et que j'ai omis de citer.*

*Zalegh Asma*

## ملخص

في الجزائر، كما هو الحال في العديد من البلدان الأخرى من العالم، وهناك منتجات الألبان تتبع طريقة تصنيعها من التراث الثقافي للسكان. ويتم صنع هذه المنتجات من أجل الحفاظ على الحليب و إطالة مدة صلاحيته.

ومن بين منتجات الألبان التقليدية الجزائرية "الجبن"

تتميز 04 عينات من "الجبن" منطقة عين صفراء، مصنوعة من حليب البقر الخام الذي متخثر من قبل "حكة" ظاهريا لغرض عزل والتعرف على بكتريا حمض اللاكتيك الحاضر.

وقد كشفت الاختبارات الفسيولوجية والبيوكيميائية الكلاسيكية والسكريات اختبار من 29 سلالات معزولة، النقاء، وحددت هناك وجود وخاصة من نوع *Lactobacilles* وذلك بنسبة 41٪، مع الأنواع الأكثر شيوعا هي: *Lactobacillus sp* (17 ٪)، *Lactobacillus brevis* (14 ٪)، *Lactobacillus plantarum* (14 ٪)، ويأتي بعدها نوع *Leuconostoc* (28 ٪) والتي تضم الأنواع التالية: *Leuconostoc lactis* (24 ٪) و *Leuconostoc mesentroides ssp* (4 ٪) *Streptococcus thermophiles* (28 ٪) و هناك أيضا *Pediococcus* من نوع *pediococcus pentaseus* ولكن مع معدل منخفض جدا (3 ٪)

ونوع *Lactococcus* غير موجودو هذا غير طبيعي لان هذا النوع من البكتيريا ينشط تحمض وتخمير الحليب لإنتاج الجبن. وقال انه قد تم الخلط بينه وبين *Leuconostoc* أو *pediococci*

*Enterocoque* ليست كما في عينات و هذا النوع من بكتيريا مؤشر على تلوث البراز ويمكن القول بأن القواعد والاجراءات الصحية هي أكثر أو أقل تطبيقها خلال جمع الحليب وأثناء عمليات التصنيع

**كلمات مفتاحية:** الجبن ، بكتريا حمض اللاكتيك، وتحديد المظهري

## Résumé

En Algérie, comme dans plusieurs autres pays du monde, on trouve des produits laitiers dont le mode de fabrication découle de l'héritage culturel de la population. Ces produits sont issus de la transformation du lait dans le but de prolonger sa durée de conservation.

Parmi les préparations lactières traditionnelles algériennes le "Jben"

04 échantillons de "jben" de la région de Ain Sefra, fabriqué avec du lait cru de vache, qui est coagulé par « Hakka » sont caractérisés phénotypiquement dans le but d'isoler et identifier les bactéries lactiques présentes.

Les tests physiologiques et biochimiques classiques et le test des sucres ont révélé que sur 29 souches isolées, purifiées et identifiées il y a la présence surtout du genre *Lactobacillus* avec un taux de 41%, dont les espèces les plus fréquentes sont : *Lactobacillus sp*(17%), *Lactobacillus brevis*(14%), *Lactobacillus plantarum*(14%), vient après le genre *Leuconostoc*(28%) dont les espèces sont *Leuconostoc lactis*(24%) et *Leuconostoc mesenteroides ssp dextranicum*(4%), puis *Streptococcus thermophilus*(28%) le genre *Pediococcus* existe aussi mais avec un taux très faible (3%) correspondant à une seule espèce *Pediococcus pentaseus*

Le genre *Lactococcus* est absent ce qui n'est pas normal car c'est ce genre de bactérie qui active l'acidification et la fermentation du lait pour produire le fromage. Il se pourrait qu'il ait été confondu avec les *Leuconostoc* ou les *Pediococcus*

Le genre *Enterococcus* n'existe pas aussi dans nos échantillons comme c'est une bactérie indicatrice de contamination fécale on peut dire alors que les règles et mesures d'hygiène sont plus ou moins appliquées pendant la collecte du lait et lors des procédés de fabrication

**Mot clé:** jben, bactéries lactiques, , identification phénotypique

## Abstract

In Algeria, as in many other countries of the world, there are dairy products whose manufacturing mode derives from the cultural heritage of the population. These products are derived from the processing of milk for the purpose of extending its shelf life.

Among traditional Algerian dairy preparations the "Jben"

04 samples of "jben" from the Ain Sefra region, made with raw cow's milk, which is coagulated by "Hakka" are phenotypically characterized in order to isolate and identify the lactic acid bacteria present.

The classical physiological and biochemical tests and the sugars test revealed that the most frequent species of lactobacillus sp (17) were Lactobacillus species with a rate of 41%, of which 29 were isolated, purified and identified. ), Lactobacillus brevis (14%), lactobacillus plantarum (14%) followed by Leuconostoc (28%), Leuconostoc lactis (24%) and Leuconostoc mesentroides ssp dextrans (4%) followed by Streptococcus thermophilus (28%) the genus Pediococcus also exists but with a very low rate (3%) corresponding to a single species Pediococcus pentoseus

The genus Lactococcus is absent, which is not normal because it is this kind of bacterium that activates the acidification and fermentation of milk to produce the cheese. It could have been confused with leuconostoc or pediococci

The genus Enterococcus also does not exist in our samples as it is a bacterium indicative of faecal contamination so it can be said that the rules and hygiene measures are more or less applied during the collection of the milk and during the manufacturing processes

**Keyword:** jben, lactic acid bacteria, phenotypic identification

# *Sommaire*

**Dédicace**

**Remerciement**

**Résumé**

**Liste de tableau**

**Liste de figure**

Introduction ..... 1

## **Partie bibliographique**

### **Chapitre I : le lait**

I .1- Définition de lait ..... 2

I .2- Composition du lait ..... 2

I .3- Caractéristiques physico-chimiques du lait ..... 3

I .4- la microflore de lait..... 4

### **Chapitre II : Produits laitiers traditionnels**

II.1-Rayeb..... 5

II.2- L'ben ..... 6

II.3 –Klila ..... 6

II.4- Zebda et Smen..... 6

II.5 –Bouhezza ..... 7

II.6 –Jben..... 7

II.6.1-Définition ..... 7

II.6.2- Fabrication de Jben..... 7

II.6.3- Caractéristiques physiques et chimiques du j'ben..... 8

II.6.4 -Microflores du jben ..... 9

## Chapitre III : les bactéries lactiques

III.1-Historique.....	10
III.2-Définition .....	10
III.3-habitat.....	10
III.4-caractéristiques généraux des bactéries lactiques .....	11
III.5-Classification des bactéries lactiques.....	11
III.6-Caractéristiques des quelques genres des bactéries lactiques .....	12
III.6.1 Le genre Lactobacillus.....	12
III.6.2 Le genre Lactococcus .....	13
III.6.3 Le genre Streptococcus.....	13
III.6.4 Les genres Leuconostoc, Oenococcus et Weissella.....	14
III.6.5 Le genre Enterococcus.....	14
III.6.6 Le genre Pediococcus et Tetragenococcus .....	15
III.6.7 Le genre Bifidobacterium.....	15
III.7- Identification des bactéries lactiques .....	17
III.8-Les applications industrielles des bactéries lactiques .....	18
III.8.1 La fermentation alimentaire .....	18
III.8.2 -Pouvoir acidifiante .....	19
III.8.3 -Activité protéolytique .....	19
III.8.4- Propriété antimicrobienne des bactéries lactiques .....	19
III.8.5 -Résistance aux bactériophages.....	19
III.8.6 -Domaine de santé.....	20

## Matériel et méthode

I-Échantillonnage .....	21
II- Technique de fabrication .....	21
III-Isolement, purification et identification des bactéries lactiques .....	23
III.1-Isolement.....	23
III.2-Purification.....	23
III. 3-Conservation des souches .....	23
III.4-Identification .....	23



III.4.1-Caractérisation phénotypique.....	23
III.4.2-Caractères physiologique .....	24
III.4.2.1 Croissance à différentes températures.....	24
III.4.2.2.Croissance en présence de différentes concentrations de Na Cl .....	24
III.4.3- Caractères biochimiques .....	24
III.4.3.1 Test de la catalase.....	24
III.4.3.2 Test d'oxydase.....	24
III.4.3.3 Type fermentaire .....	24
III.4.3.4 Utilisation de citrate .....	25
III.4.3.5 Hydrolyse de l'arginine dihydrolase (ADH).....	25
III.4.3.6 Production d'acétoine.....	25
III.4.3.7 Utilisation des sucres.....	25

## **Résultat et discussion**

I. Isolement, purification .....	27
II. Caractérisation phénotypique des souches .....	27
II.1 Aspect macroscopique.....	27
II.2 Aspect microscopique.....	27
III. Indentification des souches .....	29
III.1 Tests physiologiques et biochimiques.....	29
III.1.1-Tests physiologiques .....	29
III.1.1.1 Croissance à différents concentration de Nacl .....	29
III.1.2 tests biochimique.....	30
III.1.2.1 Type fermentaire .....	30
III.1.2.2 Recherche de l'Arginie déhydrolase (ADH).....	30
III.1.2.3 Test du citrate .....	30
III.1.2.4Test d'acétoine .....	31
III.1.2.4 -Utilisation des sucres et détermination de l'espèce .....	34

## **Discussion**

Discussion .....	37
<b>Conclusion</b> .....	39
<b>Référence bibliographique</b> .....	41

## **Annexes**

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 1</b> : Composition globale du lait de vache .....	2
<b>Tableau 2</b> : Variation de la composition du lait d'une espèce animale à une autre .....	3
<b>Tableau3</b> : Caractéristiques physicochimiques du lait de vache.....	4
<b>Tableau 4</b> : Genres communs des bactéries lactiques et principales caractéristiques.....	16
<b>Tableau 5</b> : Tests d'identification des bactéries lactiques.....	17
<b>Tableau 6</b> : les principaux produits issus de la fermentation des bactéries lactiques.....	18
<b>Tableau 07</b> : Aspects macroscopiques et microscopique des souches isolées.....	28
<b>Tableau 08</b> : résultats des tests physiologiques et biochimiques .....	32
<b>Tableau09</b> : identification du genre et espèces des souches isolées.....	34

## *Liste des figures*

<b>Figure 1</b> : Schéma simplifié les différentes étapes de préparation des produits laitiers traditionnels Algériens .....	5
<b>Figure 2</b> : Arbre phylogénétique des bactéries lactiques ( Lahtinen et al., 2012) .....	12
<b>Figure 3</b> : Le genre lactobacillus .....	13
<b>Figure 4</b> : Le genre Lactococcus .....	13
<b>Figure 5</b> : Le genre Streptococcus .....	14
<b>Figure 6</b> : Le genre Leuconostoc .....	14
<b>Figure 7</b> : Le genre Enterococcus .....	15
<b>Figure 8</b> : Le genre Pediococcus .....	15
<b>Figure 9</b> : le genre Bifidobacterium.....	16
<b>Figure 10</b> : Le jben préparé .....	22
<b>Figure 11</b> : Les procédés de fabrication du jben .....	22
<b>Figure 12</b> : Bactéries lactiques sur milieux M17 .....	27
<b>Figure 13</b> : Aspect microscopique de quelques souches lactiques isolées .....	29
<b>Figure 14</b> : croissance à différentes des bactéries lactiques à différentes concentration de NaCl .....	29
<b>Figure 15</b> : souche hétérofermentaire .....	30
<b>Figure 16</b> : souche homofermentaire .....	30
<b>Figure 17</b> : Production d'acétoïne .....	31
<b>Figure 18</b> : Résultat d'acétoïne négatif.....	31
<b>Figure 19</b> : Pourcentage des genres lactiques isolés .....	33
<b>Figure 20</b> : Le profile fermentaire de résultat effectuée sur microplaque .....	35
<b>Figure 21</b> : Pourcentage des espèces lactique dans "Jben" .....	36

# **Introduction**

**Introduction :**

Depuis l'antiquité, les bactéries lactiques ont été utilisées pour la fabrication et la conservation des aliments. La découverte de leur action sur le lait fut probablement accidentelle mais leur utilisation fut perpétuée sous forme de levains naturels (Chammas et al., 2006 ; Zamfir et al., 2006).

La microflore du lait cru, composée essentiellement de bactéries lactiques, participe de façon importante à l'élaboration des caractéristiques organoleptiques des produits laitiers fermentés (lait fermenté, fromage). De nombreuses études scientifiques montrent que les produits laitiers préparés traditionnellement à partir du lait cru ont des saveurs typiques et des qualités nutritionnelles de plus en plus recherchées par le consommateur (Chammas et al., 2006 ; Patrignani et al., 2006).

Une grande variété de produits laitiers fermentés sont préparés traditionnellement en Algérie. Ces produits font partie d'héritage Algérien et ont une grande importance culturelle, médicinale et économique. Ils ont été développés sur une longue période avec les compétences des femmes rurales. Parmi les produits laitiers fermentés, couramment consommés, le fromage traditionnel algérien appelé "jben", très populaire à la campagne et dans des villes aussi, comme Ain Sefra, Mechria, Sebdu ect... Il est fabriqué à partir du lait cru de vache, de brebis ou de chèvre. Sa fabrication demande l'utilisation des enzymes coagulantes d'origine animale comme « Hakka » ou végétales comme les fleurs d'artichauts et de cardon . Les fromages traditionnels hébergent une diversité microbienne, composée de populations microbiennes endogènes, qui joue un rôle majeur dans le développement des qualités nutritionnelles et organoleptiques très sollicitées.

Pour cela nous sommes intéressés à étudier quelques échantillons de « jben » provenant de la région de Ain Sefra fabriqué en utilisant « Hakka »

Le travail consiste à isoler des souches lactiques et les caractériser phénotypiquement par des tests physiologiques et biochimiques après isolement et purification.

# **Synthèse bibliographiques**

# **Chapitre I : Le Lait**

**Le Lait****I.1- Définition de lait :**

Le lait est un liquide alimentaire, opaque blanc mat, ou plus ou moins jaunâtre, avec odeur peu marquée et au goût douceâtre, sécrété par la glande mammaire des femelles des mammifères, pour nourrir leurs nouveaux nés (Jantel et al, 2008). En 1909, le lait destiné à l'alimentation humaine a été défini par le congrès International de la répression des fraudes, comme étant le produit intégral de la traite total et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum. (Bouregois et Larpent 1996).

**I.2- Composition du lait :**

L'aptitude d'un lait à la transformation est étroitement liée à la nature de ses constituants. Plus la matière sèche totale du lait est élevée, plus ce lait est riche et meilleur pour son rendement fromager.

**Tableau 1** : Composition globale du lait de vache (Vignola, 2002)

<b>Constituants Majeurs</b>	<b>Variation limites (o/o)</b>	<b>Valeurs moyennes (o/o)</b>
<b>Eau</b>	85.5 – 89.5	87.6
<b>Matières grasses</b>	2.4 – 5.5	3.7
<b>Protides</b>	2.9 – 5.0	3.2
<b>Glucides</b>	3.6 – 5.5	4.6
<b>Minéraux</b>	0.7 – 0.9	0.8
<b>Constituants mineurs</b>	Vitamines, enzymes, Pigments	Cellules diverses, gaz

D'autres constituants sont présents mais en quantité minime. Cependant, certains d'entre eux, du fait de leur activité biologique, revêtent une grande importance. Ce sont :

- Les enzymes : peroxydase, catalase, phosphatase.
- Les vitamines : facteurs A, D, C, B1, B2, B6, B12...etc.
- Les nucléotides
- Les lécithines : phosphate, lipide
- Les éléments cellulaires : cellules épithéliales, leucocytes...etc.



Outre, ces constituants, le lait renferme aussi des micro-organismes en quantité variable suivant l'état de santé de la femelle laitière, de l'hygiène de la traite et des manipulations diverses subies par le fermier (Alais , 1984 ).

**Tableau 2** : Variation de la composition du lait d'une espèce animale à une autre (Amiot et al., 2002 et Alais, 1984).

<b>Eléments en g/l</b>	<b>Vache</b>	<b>Chèvre</b>	<b>Brebis</b>	<b>Chamelle</b>
<b>Eau</b>	900-910	900	860	902
<b>Extrait sec total (EST)</b>	125-135	140	190	140
<b>Matière grasse</b>	35-45	45-50	70-75	46
<b>Matière protéique</b>	30-36	35-40	55-60	36
<b>Caséines</b>	27-30	30-35	45-50	28
<b>Protéines solubles</b>	4-5	6-4	8-10	8
<b>Matière minérale</b>	7.5-8.2	8-10	10-12	7.2
<b>Lactose</b>	40-50	40-45	45-50	50

### **I .3- Caractéristiques physico-chimiques du lait :**

Le lait est un liquide blanc mat, légèrement visqueux, dont la composition et les caractéristiques physico-chimiques varient sensiblement selon les espèces animales, et même selon les races (Rahali et Ménard, 1991;Soryal et al., 2004).

**Tableau3** : Caractéristiques physicochimiques du lait de vache (FAO, 1998).

Constantes	Moyennes	Valeurs extrêmes
Energie (Keal/Litre) (MJ/Litre)	701	587-876
	2930	2454-3662
Densité du lait entier à 20c°	1.031	1.028-1.033
Densité du lait écrémé	-	1.036
Densité du la matière grasse	-	0.954-0.96
PHà20c°	6.6	6.6-6.8
Acidité titrable (Dornic)	16	15-17
Point de congélation (c°)		(-0.520)-(-0.550)
Viscosité du lait entier à 20c°(centipoises)	2.2	-
Viscosité du lait entier à 25°c (centipoises)	1.8	1.6-2.1
Viscosité du lait écrémé à 20°c (centipoises)	1.9	-
Point d'ébullition	-	100.17-100.15

#### I.4- la microflore de lait

Les micro-organismes du lait sont répartis en deux grandes classes :

- **La microflore indigène ou originelle** : C'est l'ensemble des micro-organismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis, ces micro-organismes dépendent de l'alimentation, de la race et d'autres facteurs. Les genres dominants sont principalement des micro-organismes mésophiles : *Micrococcus* sp, *Lactobacillus*, *Streptococcus* ou *Lactococcus* et les bactéries à Gram négatif (Lamontagne et al., 2002).
- **La microflore contaminante** : C'est l'ensemble des micro-organismes présent dans le lait de la ferme jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération qui causera des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de conservation des produits et, d'une flore pathogène, capable de provoquer des maladies chez les personnes qui consomment ces produits laitiers (Lamontagne et al., 2002).

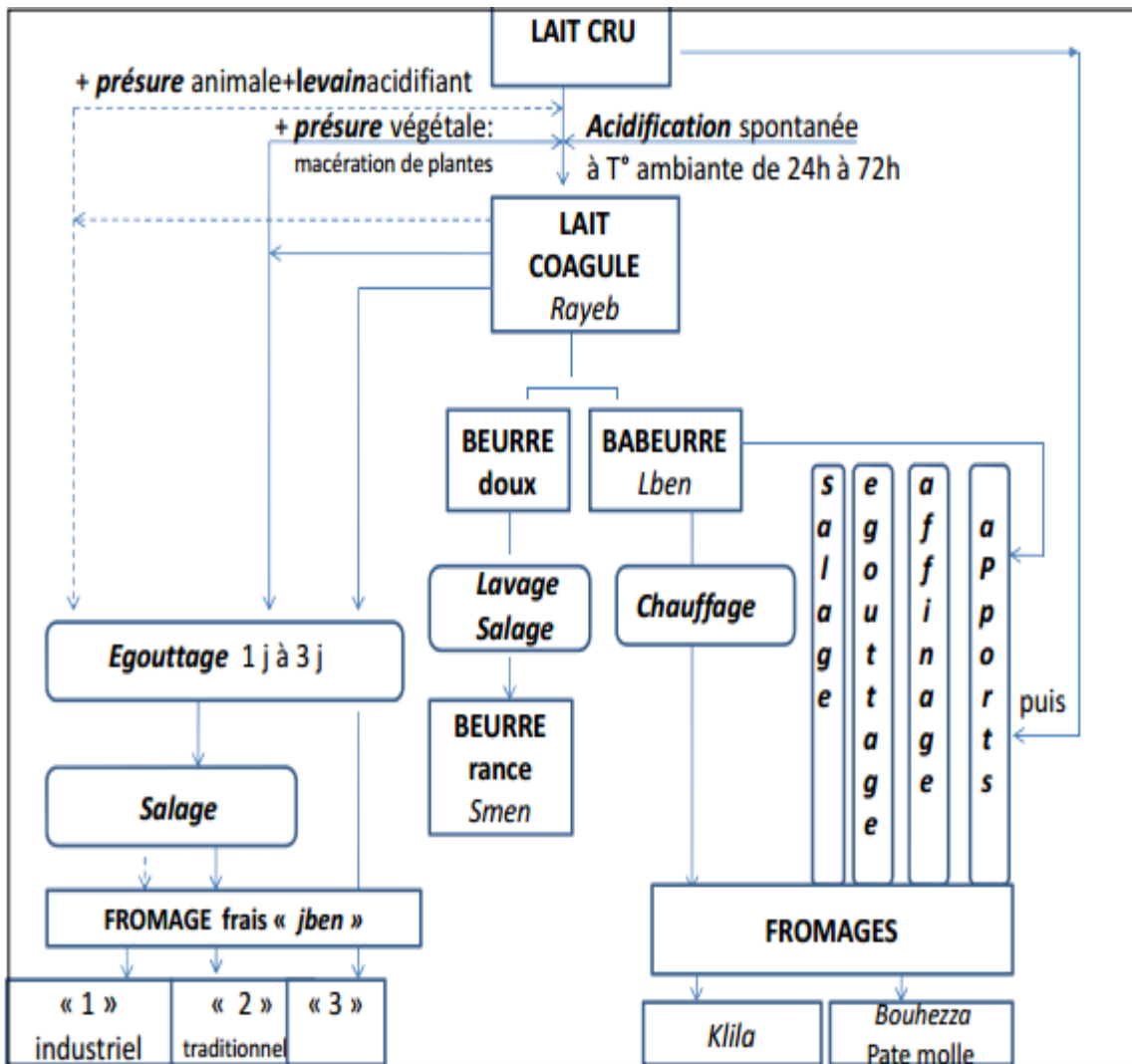
# **Chapitre II Produits Laitiers Traditionnels**

## II-Produits laitiers traditionnels

Les produits laitiers traditionnels algériens ont été peu caractérisés. Ils sont cousins de produits laitiers largement consommés dans beaucoup de pays méditerranéens et sub-sahariens (Koussou et al., 2007). En Algérie, le lait fermenté et fromages sont fabriqués traditionnellement le plus souvent par les femmes à la maison (Medouni et al., 2005) et servent à l’autoconsommation, le surplus pouvant être vendu (Bencharif, 2001).

Plusieurs produits traditionnels sont en voie de disparition pour différentes raisons, comme la non disponibilité fourragère, l’exode rural et le changement des habitudes alimentaires (Aissaoui, 2006 ; Khaledi et al., 2006).

La figure suivante schématise les méthodes de fabrication de principaux produits laitiers traditionnels



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

### **II.1-Rayeb :**

Le Rayeb est un lait caillé, traditionnellement obtenu après acidification spontanée à température ambiante durant une période qui varie de 24h à 72h selon la saison. Le Rayeb est consommé tel quel ou transformé comme le montre la figure 1 (Mechai et al ; 2014 ; Bendimerad, 2013). La fermentation est associée à des bactéries lactiques mésophiles appartenant aux leuconostocs et aux lactocoques présents naturellement dans les laits cru. Guizani et al. (2001) ,Benkerroum (2004).

### **II.2- L'ben :**

L'origine de ce produit remonte à des temps immémoriaux,. Sa fermentation lactique lui donne son arôme naturel et saveur inimitable. Le lait est abandonné à lui-même jusqu'à sa coagulation. Celle-ci se fait à température ambiante et dure 24h à 48h selon la saison.

Le barattage qui lui succède dure 30 à 40 minutes. A la fin du barattage, on ajoute généralement un certain volume d'eau tiède (environ 10% du volume du lait), de façon à ramener la température de l'ensemble à un niveau convenable au rassemblement des grains des beurre (Ouadghiri, 2009 ; Benkerroum et Taamime, 2004)

### **II.3 -Klila :**

La klila est préparée à partir du Lben chauffé sur feu doux pendant 12 minutes environ pour favoriser la séparation du caillé et de lactosérum et accélérer le processus d'égouttage. Le lait caillé est égoutté dans un tissu fin. La klila peut être consommée à l'état frais ou additionnée à certains plats traditionnels après avoir été coupé en petits cubes et séchés au soleil (Touati, 1990).

### **II.4- Zebda et Smen**

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

Le surplus de beurre produit est transformé en beurre rancie Smen par lavage du beurre frais à l'eau tiède, puis saumurage et salage à sec (saupoudrage à la surface ; 8-10g/100g) (Benkerroum et Tamine, 2004).

### **II.5 -Bouhezza :**

Ce type de fromage est répandu dans le territoire des Aurès (Zone Chaouia). Il est fabriqué à partir du lait de chèvre, de vache ou de brebis baratté et écrémé (Iben) (Touati, 1990 et Hallal, 2001).Le salage, l'égouttage et l'affinage sont réalisés simultanément dans une outre perméable (chkoua) avec incorporation de poudre du piment rouge, la fabrication de bouhezza dure plusieurs semaines à plusieurs mois, il a un gout acidulé fort caractérisé au fromage (Zaidi, 2002).

### **II.6 -Jben:**

#### **II.6.1-Définition :**

Le « Jben » est le fromage frais le plus connu et consommé depuis fort longtemps aussi bien en milieu rural qu'en milieu urbain. Dernièrement, la consommation de ce produit s'est accrue suite à l'installation dans les villes d'un grand nombre de laiteries traditionnelles qui préparent le «Jben» à partir du lait cru selon des procédures souvent artisanales. A côté de ce secteur traditionnel, certaines unités laitières semi-industrielles se sont aussi intéressées à la fabrication du «Jben», utilisant du lait soit cru, soit pasteurisé, et des procédures de préparation plus ou moins améliorées. De ce fait, il existe aujourd'hui de nombreuses méthodes de préparation du «Jben», et par conséquent, plusieurs variétés de fromage frais sont commercialisées sous la dénomination populaire commune de "Jben" (Benkerroum et Tamime 2004).

#### **II.6.2- Fabrication de Jben :**

Traditionnellement, le fromage Jben est fabriqué avec du lait cru de brebis, de chèvre ou de vache , acidifié spontanément et coagulé par des enzymes coagulantes d'origine végétale issues des fleurs de cardon (*Cynara cardunculus* L), ou d'une plante épineuse sauvage (*Cynara humilis*) ou d'artichaut ( *Cynara scolymus*), ou alors du latex de figuier (*Ficus carica*) ou des graines de citrouille. (Nouani, 2009).

On obtient le Jben noté «2 » (figure 1). Les fleurs entières sont mises à macération dans le lait. Le végétal est utilisé pour accélérer la coagulation et pour donner un certain goût au fromage. La variété végétale utilisée varie d'une région à l'autre ; elle donne un goût et une texture appréciés par les gens de la région concernée. Le caillé est ensuite égoutté et salé ou non.

Comme décrit au Maroc par Benkerroum et Tamime (2004), le Jben peut aussi être artisanalement fabriqué sans coagulation du lait cru par voie enzymatique ; dans ce cas, le lait cru est seulement coagulé par acidification spontanée, puis le caillé est égoutté pendant 2 à 3 jours pour obtenir la consistance désirée (figure1, Jben noté «3»). Des additifs peuvent être ajoutés après égouttage et salage (ail, persil, poivre,.....). Le fromage obtenu correspond dans d'autres pays arabes au fromage nommé Jibneh Beida.

Enfin un troisième procédé technologique, utilisant de la présure animale, du lait de vache et des levains acidifiants est utilisé industriellement (Jben noté «1», figure 1

### **II.6.3- Caractéristiques physiques et chimiques du j'ben :**

Le fromage frais « j'ben » ne présente pas de caractéristiques définie à causes des méthodes artisanales utilisées pour sa préparation reposant, essentiellement, sur les connaissances acquises à partir d'une longue expérience (Salmeron et al., 2002). Les arômes, les propriétés organoleptiques et les caractéristiques physico-chimiques du fromage dépendent de celles du lait qui à son tour dépend de la trace des animaux et leur type d'alimentation (Poznanski et al., 2004). Généralement, le PH (< 4.2) et l'acidité titrable (>0.9%) sont les paramètres les moins variable du « j'ben ». cependant, les matières solides totales du « j'ben » sont le facteur le plus variable car ce dernier dépend de la durée d'égouttage, étant donné que les lipides, le lactose et les protéines constituent les principaux composants de l'ensemble des matières solides (Benkerroum et Tamime., 2004). De nos jours, le jben est également préparé à partir du lait pasteurisé. Les caractéristiques finales d'un j'ben typique sont variables et affectées par la préparation du fromage (Ouahghiri et al., 2005).

#### II.6.4 -Microflores du jben :

La microflore du « Jben » marocain est dominée par les bactéries lactiques ( $10^8$ - $10^9$ ufc.g<sup>-1</sup>) qui sont principalement représentées par *L.lactis subsp. casei* (Hamama , 1997). En plus des bactéries lactiques dans le « Jben », d'autres micro-organismes peuvent être présents en assez grand nombre. Les dénombrements des levures et les moisissures peuvent dépasser  $10^6$ ufc.g<sup>-1</sup>. Bien que les levures dans le « Jben » ne soulèvent pas d'inquiétude pour la sécurité du produit, leur nombre élevé dans le produit est associé aux principaux défauts du produit, tel que l'aspect visqueux, la décoloration et la forte odeur d'alcool. Néanmoins, à des niveaux modérés, les levures peuvent contribuer à la saveur du produit. Les coliformes et les entérocoques ont été également signalés à des nombres dépassant  $10^5$  ufc.g<sup>-1</sup> ( Bouadjaib 2014)



# **Chapitre III : Bactéries lactiques**

### **III. Bactéries lactiques :**

#### **III.1-Historique :**

les bactéries lactiques ont été utilisées pour la fermentation des aliments depuis plus de 4000 ans sans les connaître et sans comprendre la base scientifique de leur utilisation, tout en essayant de produire des aliments de meilleure conservation et de meilleure qualité (Sallofe, 1994). Ce n'est qu'à la fin de 19<sup>ème</sup> siècle, époque des grandes découvertes de la microbiologie que certains chercheurs ont isolé un streptocoque (Poulain, 1994). La production de cultures des bactéries et l'emploi des ferments se développe au début du 20<sup>ème</sup> siècle (Dridier et Prevost H, 2009)

#### **III.2-Définition :**

Les bactéries lactiques sont des microorganismes ubiquitaires qui se retrouvent dans différents types d'habitats (Dellagio et al., 1994 ; Matamoros, 2008). Ce sont des cellules vivantes, procaryotes, hétérotrophe et chimio-organotrophe constituées de cocci et de bacilles (Badis et al, 2005). Elles jouent un rôle important dans de nombreux procédés laitiers et produisent de l'acide lactique. Elles colonisent de nombreux produits alimentaires comme les produits laitiers, la viande, les végétaux et les céréales et font partie de la flore qui permet la fermentation spontanée de produits alimentaires (Stiles et al., 1997).

#### **III.3-habitat:**

Les bactéries lactiques sont très abondantes dans la nature. Elles se trouvent généralement associées à des aliments riches en sucre simple. Elles peuvent être isolées du lait, du fromage, de la viande, de végétaux ou autres aliments. Elles se développent avec la levure dans le vin, la bière et le pain. Quelques espèces colonisent le tube digestif de l'homme et des animaux (Leveu et Bouix, 1993; Hassan et Frank, 2001. Hadaf, 2012).

### III.4-caractéristiques généraux des bactéries lactiques :

Ce sont des bactéries à Gram positif, asporulantes, aéro-anaérobie facultatives ou microaérophiles, généralement immobiles, acido-tolérantes et capables de croître à des températures comprises entre 10°C et 45°C (Zhang et Cai, 2014) ces micro-organismes peuvent être divisés en deux groupes:

- **Homofermentaires** : l'acide lactique est le seul produit de la fermentation du glucose
- **Hétérofermentation** : la fermentation du glucose aboutit à la formation l'acide lactique et d'autres composés : éthanol, CO<sub>2</sub>, acide acétique et autre acide organique (Priyanka et Prakash ; 2009, Hadeif, 2012).

Ces bactéries ne possèdent ni catalase, ni nitrate réductase, ni cytochrome oxydase, elles sont protéolytiques, ne liquéfient pas la gélatine, et ne forment plus d'indole ni d'hydrogène sulfureux, ces bactéries sont également incapables de fermenter le glycérol (Dellaglio et al, 1994; Salminen et al, 2004; Zhang et Cai, 2014).

Elles ont des exigences nutritionnelles complexes pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels, les acides gras et les glucides fermentescibles ; c'est la raison qui explique leur abondance dans le lait (Dellaglio et al, 1994; Hogg, 2005;).

### III.5-Classification des bactéries lactiques :

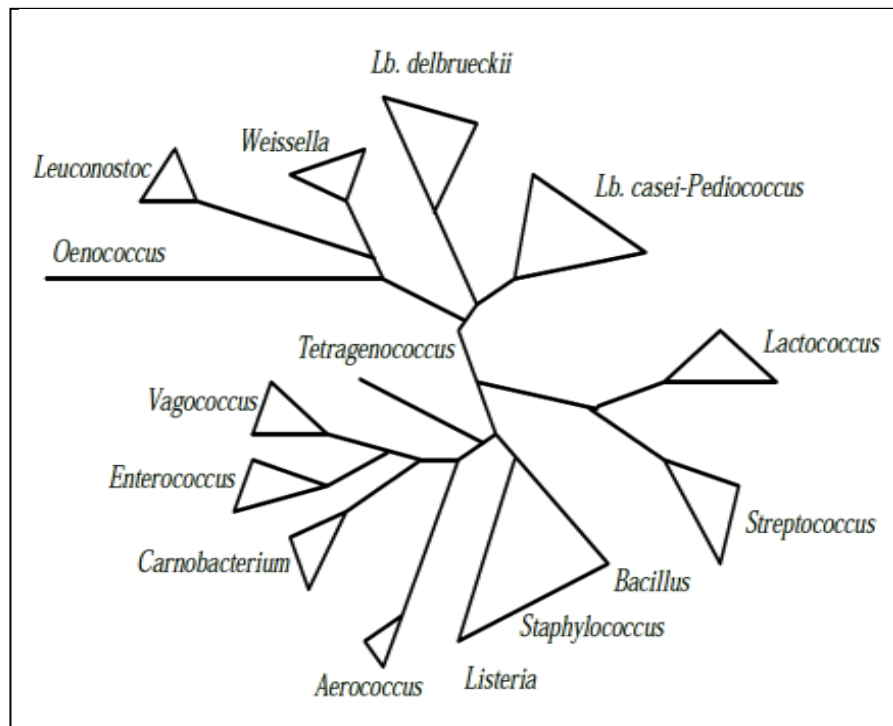
Traditionnellement, les bactéries lactiques ont été classées sur la base des propriétés phénotypiques : la morphologie, le mode de fermentation du glucose, la croissance à différentes températures, l'isomère de l'acide lactique produit et la fermentation des différents hydrates de carbone ( Roissart et Luquet, 1994;Holzapfel et al., 2001).

Selon la classification taxonomique, elles appartiennent à l'embranchement des Firmicutes, classe de Bacilli, et l'ordre Lactobacillales. (Lahtinen et al., 2012).

Les genres les plus étudiés sont Lactobacillus, Lactococcus, Streptococcus, Leuconostoc,

Enterococcus et Pediococcus (Drouault et Corthier, 2001).

Actuellement le groupe des bactéries lactiques associées aux aliments renferme les 12 genres suivantes: *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Weissella* et *Bifidobacterium*.

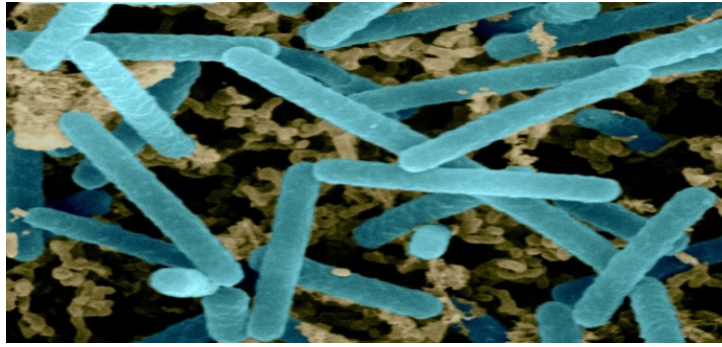


**Figure 2 :** Arbre phylogénétique des bactéries lactiques ( Lahtinen et al., 2012).

### III.6-Caractéristiques des quelques genres des bactéries lactiques :

#### III.6.1 *Lactobacillus* :

*Lactobacillus* est le genre principal de la famille des lactobacillaceae, il contient de nombreuses espèces qui sont des agents de fermentation lactique intervenant dans de nombreuses industries ou qui sont rencontrées comme contaminants. Il s'agit de bacilles longs et fins souvent groupés en chaînes, immobiles, asporulés, catalase négative, se développent à un optimum de température situé entre 30 et 40°C (Khalid et Marth ,1990 ;Leclerc et al , 1994).



**Figure 3 :** Genre *Lactobacillus* (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Lactobacillus>)

### III.6.2 *Lactococcus* :

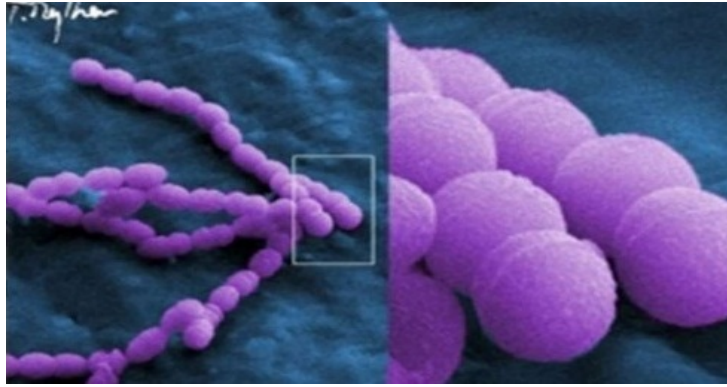
Les lactocoques se présentent sous forme de coques en paire ou en chaînes de longueur variable. Ce sont des bactéries anaérobies facultatives homofermentaires ne produisant que de l'acide lactique, seul *Lactococcus lactis subsp. Lactis biovar. diacetylactis* produisant le diacétyle. Leur température de croissance est proche de 30°C. Quelques espèces produisent des exopolysaccharides et des bactériocines (Tamime, 2002).



**Figure 4 :** Genre *Lactococcus* (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Lactococcus>)

### III.6.3 *Streptococcus*

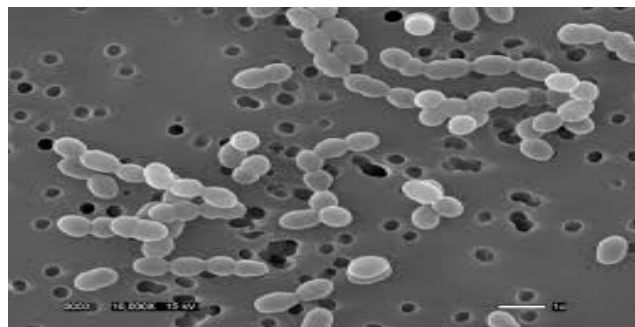
Le genre *Streptococcus* comprend essentiellement des espèces d'origine humaine ou animale dont certaines sont pathogènes comme *S.pyogenes* et *S.agalactiae* ; d'autres sont impliquées dans la formation de la plaque dentaire (*S.mutans*), ces espèces étant rarement rencontrées dans les aliments. *Streptococcus thermophilus* est la seule espèce de streptocoque qui soit utilisée en technologie alimentaire. *Streptococcus thermophilus* se différencie par son habitat (lait et les produits laitiers) et son caractère non pathogène. (Fedrighi., 2005).



**Figure 5** : Genre Streptococcus (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Streptococcus>)

#### 6.3.4 Leuconostoc, Oenococcus et Weissella

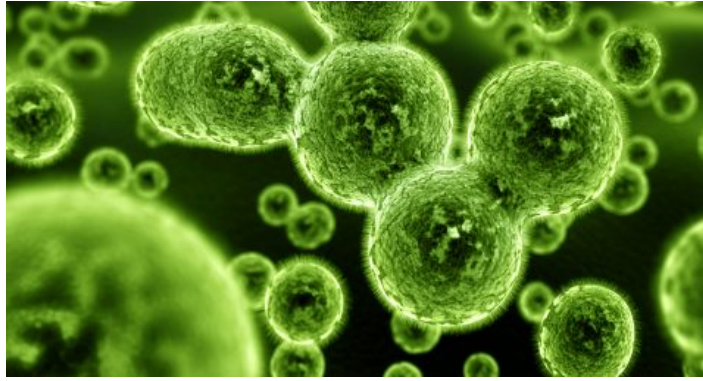
Se sont des coques lenticulaires en paires ou en chainettes mésophiles, qui possèdent un caractère hétérofermentaire marqué, avec production d'acide lactique, de CO<sub>2</sub> et l'éthanol. Les caractéristiques telles que l'hydrolyse de l'esculine, la formation du dextrane, la capacité à croître à différent pH et température, l'assimilation du citrate et/ou malate permettent la différenciation entre les genres Leuconostoc et Weissella (Pilet et al., 1998 ; Ho et al., 2007).



**Figure 6** : Genre Leuconostoc (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Leuconostoc>)

#### 6.3.5 Enterococcus

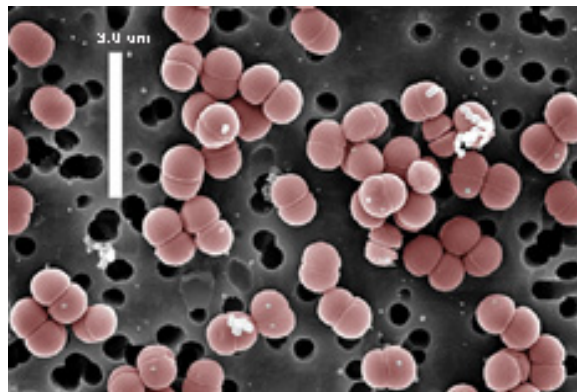
Ce genre regroupe les streptocoques fécaux. Ce sont des commensaux de l'intestin. Les espèces rencontrées dans l'alimentation sont essentiellement *Enterococcus faecalis* et les espèces proches. Les Enterocoques sont des coques qui peuvent être mobiles, homofermentaires, généralement différenciés par la fermentation de l'arabinose et de sorbitol, ils croissent entre 10°C et 45°C (Tamime, 2002 ; Ho et al., 2007).



**Figure 7** : Genre Enterococcus (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Enterococcus>)

### 6.3.6 Pediococcus et Tetragenococcus

Les *Pediococcus* sont des coques homofermentaire dont la particularité est le groupement en tétrade. Ils sont mésophiles, le plus souvent incapable d'utiliser le lactose, et leur développement nécessite la présence de divers facteurs de croissance. Certaines espèces se distinguent par leur capacité à se développer à des teneurs en sel très élevées, comme *Pediococcus halophilus*, renommé *Tetragenococcus halophilus* et *Tetragenococcus muriaticus* qui tolère jusqu'à 18% de NaCl (Pilet et al., 2005).



**Figure 8** : Genre Pediococcus (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Pediococcus>)

### 6.3.7 Bifidobacterium

Ce genre est considéré comme faisant partie du groupe des bactéries lactiques grâce à la similarité de ses propriétés physiologiques et biochimiques et à sa présence dans le même habitat écologique, tel que le tube gastro intestinal.

Les bifidobactéries se caractérisent par leur forme très irrégulière souvent en forme « V » mais pouvant être coccoïde, la présence d'une enzyme, le fructose-6-phosphate phosphocétolase, celle-ci leur permet de fermenter les hexoses en produisant de l'acide acétique et de l'acide lactique. Leur température de croissance varie de 36°C à 43°C (Axelsson et al., 2004 ; Pilet et al., 2005 ; Ho et al., 2007).

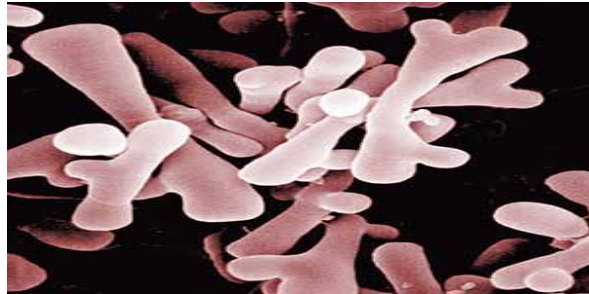


Figure 9 : le genre Bifidobacterium (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Bifidobacterium>)

Tableau 4: Genres communs des bactéries lactiques et principales caractéristiques (Lahtinen et al., 2012).

Famille	Genre	Caractéristique								Type d'Ac lac
		Forme	CO <sub>2</sub> à partir du Glucose	Croissance à 10°C	Croissance à 45°C	Croissance à 6.5% de NaCl	Croissance à 18% de NaCl	Croissance PH4.4	Croissance à PH9.6	
Aerococaceae	Aerococcus	Cocci (tétrade)	-	+	-	+	-	-	+	L
Carnobacteriaceae	Cornobacterium	Bacille	-	+	-	ND	-	ND	-	L
Enterococaceae	Enterococcus	Cocci	-	+	+	+	-	+	+	L
	Tetragonococcus	Cocci tétrades		+	-	+	+	Variable	+	
	Vagococcus	Cocci		+	-	--	-		-	
Lactobacillaceae	Lactobacillus	Bacille	Variable	Variable	Variable	Variable	-	Variable	-	D, L, DL
	Pediococcus	Cocci tétrades	-	Variable	Variable	Variable	-	+	-	L, DL
Leuconostocaceae	Leuconostoc	Cocci	+	+	-	Variable	-	Variable	-	D
	Oenococcus		+	+	-	Variable	-	Variable	-	D
	Weissella		+	+	-	Variable	-	Variable	-	D, DL
Streptococaceae	Lactococcus	Cocci	-	+	-	-	-	Variable	-	L
	Streptococcus		-	-	Variable	-	-	-	-	L

Ac lac : acide lactique



### III.7- Identification des bactéries lactiques :

L'identification des bactéries lactiques se basant sur des caractères morphologiques et biochimiques : forme, coloration de Gram, catalase, croissance à différentes température, sensibilité au NaCl, fermentation du sucre, production de CO<sub>2</sub>.

**Tableau 5:** Tests d'identification des bactéries lactiques. (Lairini, 214)

Souches		Lb1	Lb2	Lb3	Lb4	Lb5	Leuc1	Leuc2	Lc1	Lc2
Tests										
Gram		+	+	+	+	+	+	+	+	+
Morphologie		Bacille	Cocobacil	Bacille	Bacille	Bacille	Coque	Coque	Coque	Coque
Catalase		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Production de CO <sub>2</sub>		-	-	-	-	-	+	+	+	+
Température	4°C	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	25°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	45°C	-	-	+	-	-	+	+	-	-
NaCl	2%	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	4%	+	+	-	+	+	+	-	+	+
	6,5%	+	+	-	+	-	-	+	-	-
Fermentation des sucres	Lactose	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	saccharose	+	+	-	+	+	+	+	+	+
	Ribose	+	+	-	+	+	+	+	+	-
	Fructose	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Selon le tableau on classe les bactéries lactiques en quatre groupes :

- Groupe 1 : Lb1, Lb2, Lb5 sont des bactéries lactiques mésophiles et homofermentaires facultatifs.
- Groupe 2 : Lb3 sont des bactéries lactiques thermophile homofermentaire.
- Groupe 3 : Leuc1, Leuc2 sont des (Leu) thermophiles hétérofermentaires.
- Groupe 4 : Lc1, Lc2 sont des (Lc) thermophiles hétérofermantaires.

**Lb** : Lacobacilus

**Lc** : Lactocoque

**Leuc** : Leuconostoc

### III.8-Applications industrielles des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques présentent des activités métaboliques assez diversifiées et une capacité d'adaptation à différents environnements. Cette diversité est responsable de leur large gamme d'application à l'échelle industrielle.

#### III.8.1 Fermentation alimentaire :

Les ferments lactiques, contenant une ou plusieurs cultures pures en proportion définies de différentes bactéries lactiques, sont largement utilisés en agroalimentaire (Horzafel, 2001)

Les bactéries lactiques interviennent dans nombreuses transformations du lait, mais également dans la vinification, la fabrication des salaisons, la fermentation des végétaux et en boulangeries traditionnelles (Desmazeaud, 1996 ; Axelsson, 2004).

**Tableau 6:** les principaux produits issus de la fermentation des bactéries lactiques (Penaud, 2006).

Genre	Substrat	Exemples de produits
<i>Bifidobacterium</i>	lait	laits fermentés
<i>Lactobacillus</i>	lait	yaourts, laits fermentés, kéfirs, fromages
	viande	saucissons secs, jambons secs
	végétaux	choucroute, olives, "yaourts" au lait de soja
	céréales	pain au levain, bières
<i>Lactococcus</i>	lait	fromages, kéfirs
<i>Leuconostoc</i>	Végétaux	choucroute, olives, vin
	lait	fromages, kéfirs
<i>Pediococcus</i>	végétaux	choucroute
	viande	saucisses semi-séchées
<i>Oenococcus</i>	végétaux	vin
<i>Streptococcus</i>	lait	yaourts, laits fermentés, fromages

**III.8.2 -Pouvoir acidifiante :**

L'activité acidifiante est une l'une des principales fonctions des bactéries lactiques.

Les bactéries lactiques provenant des matières premières ou de l'environnement sont responsables de la production d'acide lactique résultant de l'utilisation des hydrates de carbone.

Dans la fermentation homolactique, l'acide lactique est le produit prépondérant (plus de 95%). Cette activité est faible chez le genre *Leuconostoc* lorsqu'il croit a des bas pH, et forte chez *lactobacillus bulgaricus* (Badis et al, 2004).

**III.8.3 -Activité protéolytique :**

Les bactéries lactiques possèdent des protéinases, et des peptidases nécessaire à la dégradation des protéines du lait en peptides et acides aminés. Ceux-ci peuvent alors être transformés

en alcools et en acides. Cette activité protéolytique intervient de se fait sur le rendement fromager, la texture et la saveur typique du fromage et par conséquent sur les caractéristiques du produit final (Schirch et al., 1985).

**III.8.4- Propriété antimicrobienne des bactéries lactiques :**

On reconnait depuis longtemps, aux bactéries lactiques, la propriété de produire des substances antimicrobienne leur permettant de se développer préférentiellement dans divers écosystèmes. L'activité antagoniste des bactéries lactiques est due aux métabolites excrétés : l'acide lactique et autre acide organique, peroxyde d'hydrogène, diacétyle, et les bactériocine (Leveau et al., 1991, Klaenhammer et al., 1994).

**III.8.5 -Résistance aux bactériophages :**

Les phages, virus des bactéries, sont des parasites obligatoires. Ils constituent l'une de principales causes de perturbation de l'acidification du lait par les bactéries lactiques. Il est nécessaire que les bactéries lactiques composant les ferments ne soient pas toutes sensibles aux mêmes phages pour diminuer les risques d'accidents de fabrication.

### III.8.6 -Domaine de santé :

Dans le domaine de la santé, certaines bactéries lactiques spécifiques sont utilisés comme probiotiques c'est-à dire des micro-organismes vivant (dont l'application à l'homme ou à l'animal exerce un effet bénéfique sur ce dernier par amélioration des propriétés de la flore intestinale). Les espèces couramment utilisée sont *Lb.Acidophilus*, *Lb.Johnsonii*, *Lb. Reuteri*, *Lb. Delbruecki*, *Subsp bulgaricus* (Salminen et al., 2004). Les souches lactiques sont également utilisé dans le traitement de certaines affections telles que la diarrhée, les allergies alimentaires. D'autre effet, comme la prévention des gastro-entérites nosocomiales chez le nourrisson, des propriétés anti-cancérogènes, anti-hypercholestérolémiques, lutte contre *Clostridium difficile* et *Helicobacter pylori*, prévention des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.

# **Matériel et méthodes**

### **I-Échantillonnage :**

Les travaux ont été réalisés au niveau du laboratoire de microbiologie LAMAABE

Quatre échantillons de différents sites de la région de Ain Safra wilaya de Naama sont transportés au laboratoire dans une glacière à 4°C et mis au congélateur.

24h avant les analyses, les échantillons sont retirés du congélateur et mis au réfrigérateur

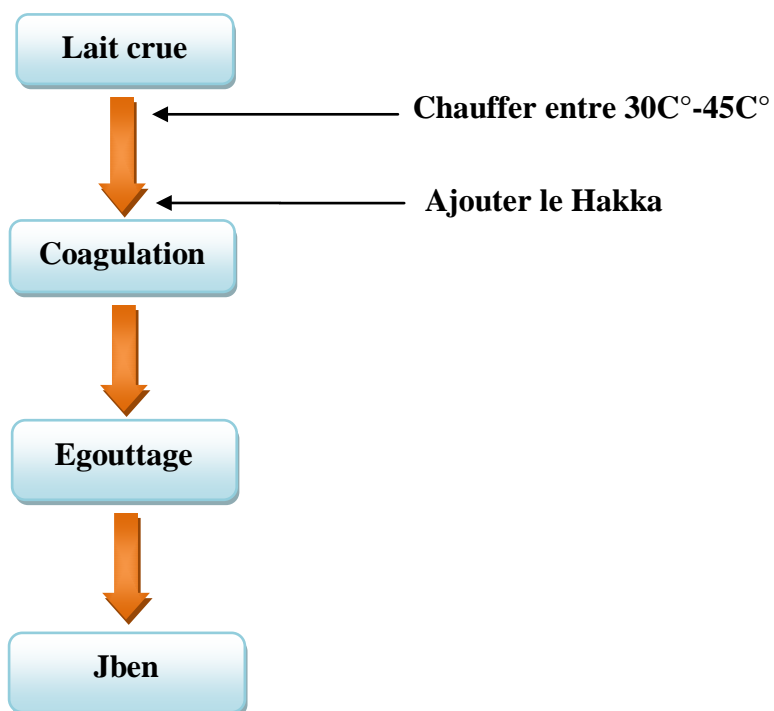
### **II Technique de fabrication :**

Les échantillons de « jben » ramené de Ain Sefra sont fabriqués avec du lait cru de vache de la façon suivante

Le Lait est chauffé pendant 4 minutes jusqu'à devenir tiède (45°C), Puis le fabricant introduit dans le lait un petit morceau de présure "Hakka" protégé dans un tissu poreux, il l'introduit puis le retire sans cesse pendant un bon bout de temps (5 à 10mn) , puis il laisse le lait se reposer. Après 10 à 15 mn, le lait devient caillé. Il est mis ensuite dans un tissu poreux pour l'égouttage.

- **Définition de Hakka:**

Hakka est une substance organique extraite de la caillette des jeunes ruminants non sevrés, obtenues à partir de l'estomac de chevreau et d'agneau, elle contient une enzyme, la chymosine qui agit comme une endopeptidase capable de couper la liaison phénylalanine — méthionine. Elle permet ainsi de séparer le glycopeptide de la caséine K qui assure la stabilité du lait.



**Figure 10:** Procédé de fabrication du jben



**Figure 11:** Echantillon de jben étudié

### **III-Isolement, purification et identification des bactéries lactiques:**

#### **III.1-Isolement :**

A partir d'un bouillon MRS, M17 et MRS +vancomycine de 24h ou 48h, une culture de 0,1ml est étalé à la surface des géloses MRS, M17 et MRS +vancomycine .les boites sont ensuite incubées à 30°C pendant 24h

#### **III.2-Purification :**

La purification est réalisée par repiquages successifs des colonies dans les milieux MRS, M17, MRS + vancomycine, liquide puis solide. L'incubation des cultures se fait pendant 24h à 30°C. Les colonies pures sont retenues pour leur identification.

#### **III. 3-Conservation des souches :**

- ❖ **A courte terme** : Les souches sont conservées à 4°C dans des géloses en tubes inclinées avec un repiquage toutes les 4 semaines
- ❖ **A long terme** : les souches sont conservées à – 20°C dans des tubes ependorpes contenant une solution de 70% de lait écrémé (enrichie de 0.5g/l d'extrait de levure, 0.5g/l de glucose à 30%) et 30% de glycérol.

#### **III.4-Identification :**

##### **III.4 1 Caractérisation phénotypique :**

###### **III.4.1.1Examen macroscopique :**

Cette étude est basée sur l'observation visuelle de la culture sur son milieu solide ; pour caractériser la taille, la forme, le diamètre, la pigmentation et l'aspect des colonies.

###### **III.4.2 Examen microscopique :**

L'aspect morphologique des souches apparait après coloration de Gram et observation microscopique

La coloration de Gram (**voir l'annexe 2**)



### **III.4.2 Caractères physiologique :**

**III.4.2.1 Croissance à différentes températures :** la croissance des souches est testée après les avoirensemencées en strie sur un milieu gélosé et incubées 24h à 48h en présence des différentes températures 37°C, 40°C et 45°C

**III.4.2.2 Croissance en présence de différentes concentrations de Na Cl :** Les souches sontensemencés dans des milieux de cultures à différentes concentrations de NaCl : 2,5 %, 3%, 4%,5% et 6,5% de NaCl. Puis incubées à 30°C pendant 24 h à 72h.

### **III.4.3 Caractères biochimiques**

#### **III.4.3.1 Test de la catalase :**

Ce test consiste à mettre une colonie bactérienne dans de l'eau oxygénée. Le dégagement de bulles de gaz signifie que la bactérie possède l'enzyme catalase donc le test est positif.

#### **III. 4.3 2 Test d'oxydase :**

Une colonie pure est mise sur papier Wattman imbibé de réactive oxydase. L'apparition d'une couleur bleue signifie que le test est positif et que la souche possède l'enzyme oxydase. Seuls les isolats Gram positif, catalase et oxydase négatives ont été considérés comme étant des bactéries lactiques

#### **III.4.3.3 Type fermentaire :**

Les souches sontensemencées dans des bouillons MRS, M17 et MRS +vancomycine contenant les cloches de Durham, puis elles sont incubées à 30°C pendant 24à 48 heures. La présence ou l'absence de gaz dans la cloche indique le type fermentaire

Les souches homofermentaires vont produire 90% d'acide lactique et seulement 10% de CO<sub>2</sub>, par contre les souches hétérofermentaires vont produire l'acide lactique et le CO<sub>2</sub> a proportions égale (Carr et al. 2002).

### **III.4.3.4 Utilisation de citrate :**

Est testée en utilisant le milieu Kempler et Mc Kay. Ce milieu riche en citrate est ensemencé en surface puis incubé pendant 18h-72h à 30°C.

\*Réaction positive : virage du milieu au bleu

\*Réaction est négative : milieu reste vert

### **III.4.3.5 Hydrolyse de l'arginine dihydrolase (ADH):**

Le milieu M16BCP contenant le pourpre de bromocrésol comme indicateur coloré est ensemencé par une colonie bactérienne est incubé en anaérobiose. Si après 24h d'incubation à 30°C le bouillon change de couleur du violet vers le jaune, la souche est ADH+

### **III.4.3.6 Production d'acétoïne :**

5ml de lait écrémé sont ensemencée par la culture. Après incubation 24h à 30°C. Une goutte de VP1 et 1 goutte de VP2 sont rajouté .L'apparition d'un anneau rose à la surface signifie que la souche produit l'acétoïne.

### **III.4.3.7 Utilisation des sucres :**

Ce test est réalisé en utilisant les microplaques

Des solutions sucrées sont préparé (1% de sucre dans l'eau distillée stérile).

Les sucres testés sont : mannitol, Arabinose, dextrose, inositol, amidon, Sorbitol, Maltose, cellulose, fructose, Saccharose, galactose, Lactose.

Le médium de la plaque 50chl et répartie dans des tubes de 10 ml. Puis ensemencé par la souche préalablement revivifiée dans leur bouillon de culture

La microplaque contient 96 puits devisé en 12 colonnes et 08 lignes. 7 souches lactiques sont testée .Pour chaque sucre un puit est laissé comme témoin.

## Matériel et méthodes

---

La technique consiste à remplir les puits avec le bouillon, puis une goutte du sucre testé est rajoutée, avant d'ensemencer les puits avec la souche lactique. L'incubation se fait en anaérobiose par l'ajout de l'huile de paraffine à 30°C pendant 24h à 48h.

Le virage de la couleur du milieu du violet au jaune indique la fermentation du sucre.

# **Résultats et interprétation**

### Résultat et discussion :

#### I. Isolement, purification :

A partir des 4 échantillons de « Jben », les bactéries lactiques sont isolées sur milieu MRS et M17 solide.

La purification des souches lactiques isolées, a donné des colonies avec un aspect, c'est à dire la couleur, la taille et la forme typique et homogènes.

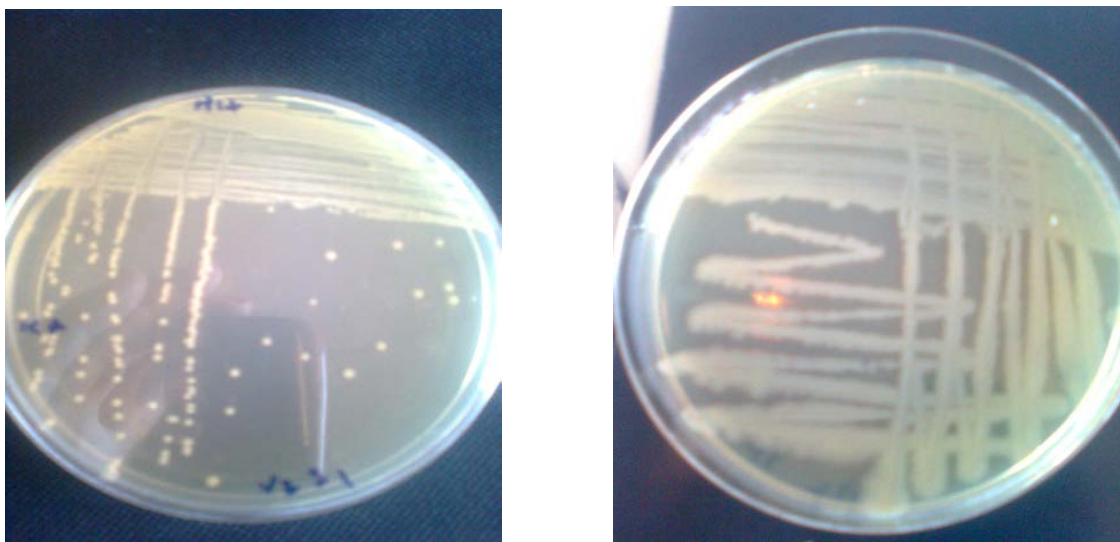
29 souches pures sont obtenues, elles sont conservées dans leur milieux de culture solide en tube inclinée pour la suite des tests d'identifications

#### II. Caractérisation phénotypique des souches

##### II.1 Aspect macroscopique

Les cultures obtenues sur les boites de pétries sont observées à l'œil nu pour différencier la forme, la taille, l'aspect ainsi que la couleur des colonies

Sur la figure suivante, les colonies apparaissent de petite taille, de forme ronde, avec une couleur blanche ou transparente.



**Figure 12 :** Bactéries lactiques sur milieu M17

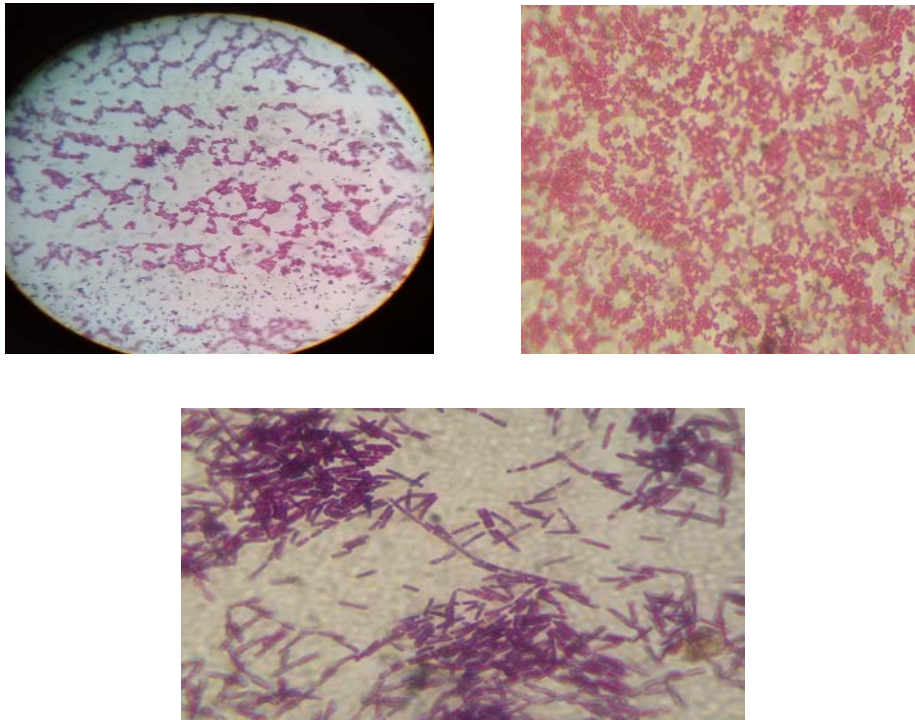
### II.2 Aspect microscopique

L'observation microscopique après coloration de Gram a révélé des colonies Gram positive, cocci ou bacilles avec différents modes d'associations (figures cis dessous)

Les résultats de l'examen microscopique sont illustrés dans le tableau 07

**Tableau 07:** Aspects macroscopiques et microscopique des souches isolées

Souches	Observation macroscopique	Observation microscopique
S1	Colonie blanc arrondie	Petit bacille en chaîne
S2	Colonie blanc arrondie	Petit bacille en chaîne
S3	Colonie blanc arrondie	Petit bacille en chaîne
S4	Colonie blanc arrondie	Petit bacille en chaîne
S5	Colonie blanc arrondie	Petit bacille en chaîne
S6	Colonie blanc arrondie	Petit bacille en chaîne
S7	Colonie blanc arrondie	Petit bacille en chaîne
S8	Colonie blanc arrondie	Petit bacille en chaîne
S9	Colonie blanc arrondie	Petit bacille en chaîne
S10	Colonie blanc arrondie	Petit bacille en chaîne
S11	Colonie blanc arrondie	Petit bacille en chaîne
S12	Colonie blanc arrondie	Petit bacille en chaîne
S13	Colonie blanc arrondie	Cocci diplocoque
S14	Colonie blanc arrondie	Cocci diplocoque
S15	Colonie blanc arrondie	Bacille en chaîne
S16	Colonie blanc arrondie	Cocci diplocoque
S17	Colonie blanc arrondie	Cocci diplocoque
S18	Colonie blanc arrondie	Cocci diplocoque
S19	Colonie blanc arrondie	Cocci diplocoque
S20	Colonie blanc arrondie	Cocci diplocoque
S21	Colonie blanc arrondie	Cocci diplocoque
S22	Colonie transparente	Petit cocci en chaîne
S23	Colonie transparente	Petit cocci en chaîne
S24	Colonie transparente	Petit cocci en chaîne
S25	Colonie transparente	Petit cocci en chaîne
S26	Colonie transparente	Petit cocci en chaîne
S27	Colonie transparente	Petit cocci en chaîne
S28	Colonie transparente	Petit cocci en chaîne
S29	Colonie transparente	Petit cocci en chaîne



**Figure 13:** Aspect microscopique de quelques souches lactiques isolées

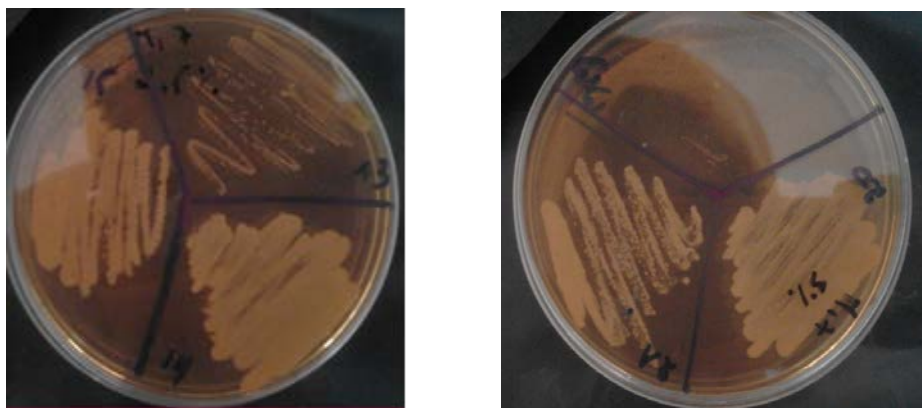
### III- Identification des souches:

#### III.1 Tests physiologiques et biochimiques

Les isolats Gram positif, catalases négatifs sont étudiés pour déterminer les espèces.

##### III.1.1-Tests physiologiques

##### III.1.1.2 Croissances à différentes concentration de NaCl



**Figure 14 :** Croissances des bactéries lactiques à différentes concentration de NaCl

### III.1.2 Tests biochimiques:

#### III.1.2.1 type fermentaire :

Les bactéries lactiques homofermentaires comprennent les espèces de lactocoques, pediocoques, ainsi que certains lactobacilles..

Les hétérofermentaires sont les leuconostoc et certains lactobacilles



**Figure 15:** Souches hétérofermentaires



**Figure 16 :** Souches homofermentaires

#### III.1.2.2 Recherche de l'Arginine déshydrogénase (ADH):

Sur M16BCP on observe que tous les isolats n'ont pas la capacité d'hydrolyser l'arginine, on peut dire alors qu'elles ne possèdent pas l'enzyme arginine déshydrogénase

#### III.1.2.3 Test du citrate:

Les colonies qui utilisent le citrate produisent des composés aromatiques et apparaissent sur milieu KMK de couleur bleu alors que celles qui n'utilisent pas le citrate apparaissent de couleur blanche

Notre résultat donne des colonies de couleur blanche c'est-à-dire le test est négatif



### III.1.2.4 Test d'acétoïne:

Toutes les souches lactiques sont acétoïne négatif sauf la souche 13 est acétoïne positif c'est-à-dire qu'il y a présence d'un anneau rose dans le milieu



**Figure 17** : Production d'acétoïne

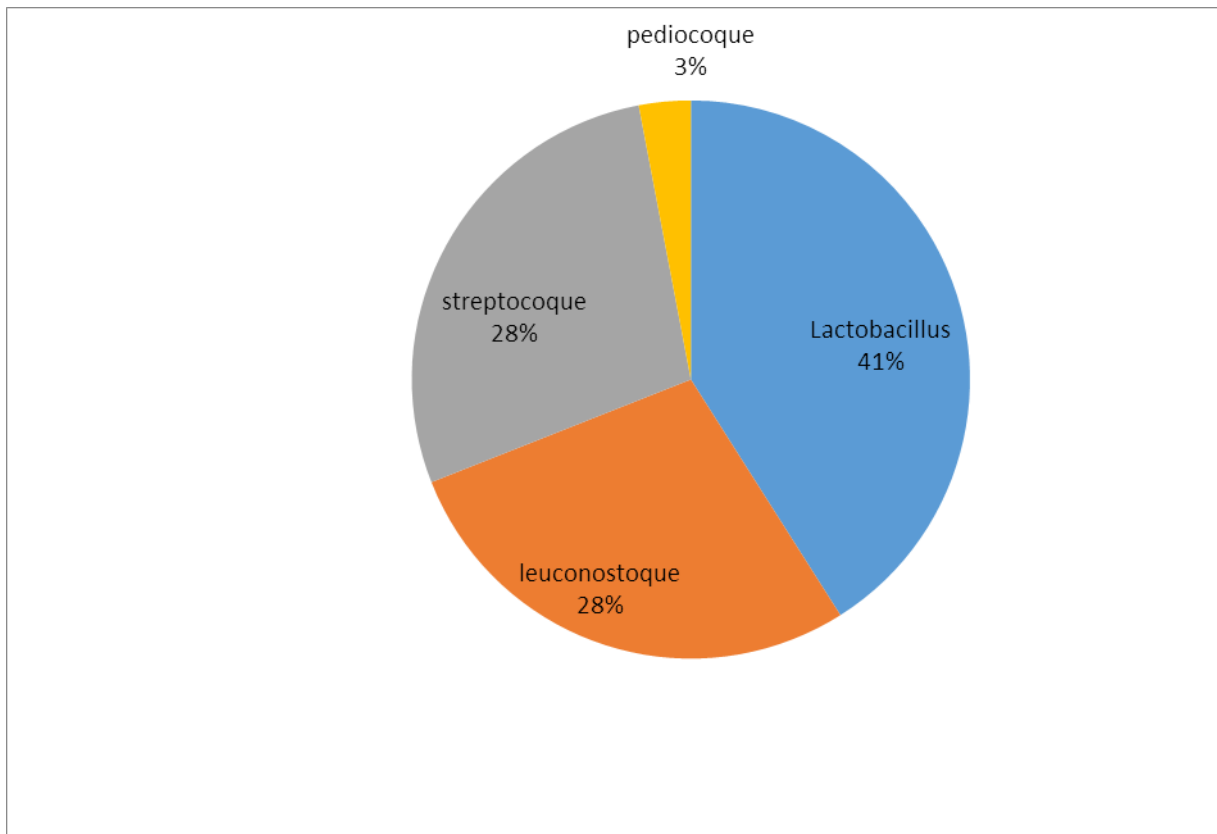


**Figure 18** : Résultat d'acétoïne négatif

## Résultat et interprétation

Souches	Gram	Catalase	Type Fermentaire	Test physiologique										Test biochimique		
				Température			NaCl					AD H	Dégradatio n de citrate	Acét		
				37C°	40C°	45C°	2.5%	3%	4.5%	5%	6.5%					
S1	+	-	Homofermentaire	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
S2	+	-	Homofermentaire	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
S3	+	-	Homofermentaire	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
S4	+	-	Homofermentaire	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
S5	+	-	Homofermentaire	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
S6	+	-	Homofermentaire	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	
S7	+	-	Homofermentaire	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
S8	+	-	Homofermentaire	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
S9	+	-	Hétérofermentaire	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
S10	+	-	Homofermentaire	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
S11	+	-	Hétérofermentaire	-	-	-	+	+	+/-	+	-	-	-	-	-	
S12	+	-	Homofermentaire	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
S13	+	-	Homofermentaire	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	
S14	+	-	Homofermentaire	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	
S15	+	-	Hétérofermentaire	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	
S16	+	-	Homof/Hétéro	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	
S17	+	-	Homof/Hétéro	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	
S18	+	-	Homof/Hétéro	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	
S19	+	-	Homof/Hétéro	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	
S20	+	-	Homofermentaire	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	
S21	+	-	Homofermentaire	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	
S22	+	-	Hétérofermentaire	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
S23	+	-	Hétérofermentaire	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
S24	+	-	Hétérofermentaire	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
S25	+	-	Hétérofermentaire	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	
S26	+	-	Hétérofermentaire	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	
S27	+	-	Hétérofermentaire	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	
S28	+	-	Hétérofermentaire	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	
S29	+	-	Hétérofermentaire	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	

**Tableau 08:** résultats des tests physiologiques et biochimiques



**Figure 19 :** Pourcentage des genres Lactiques isolés

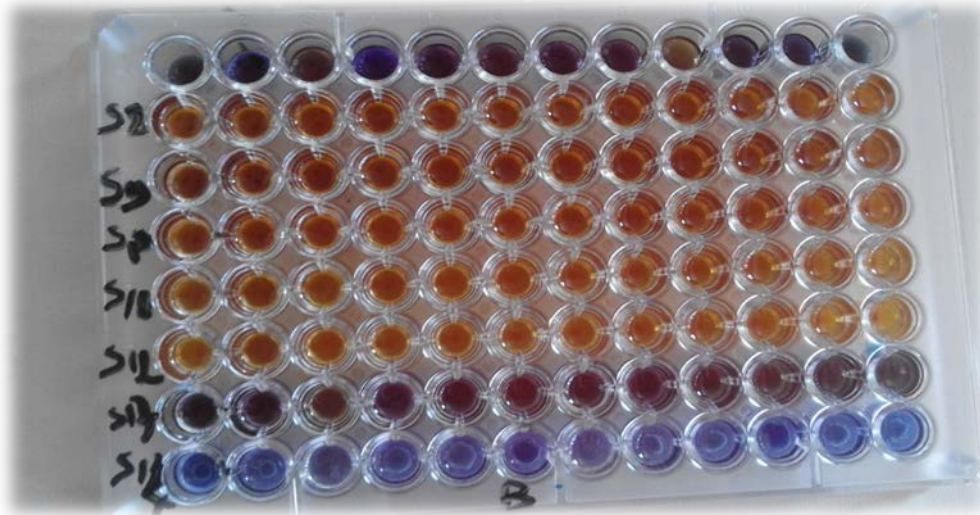
### III.3-Utilisation des sucres et détermination de l'espèce

Tableau09 : identification du genre et espèces des souches isolées

Souches	Manitol	Arosinose	Dextrose	Imositol	Amidon	Sarbitol	Maltose	Cellulose	Fructose	Saccharose	Galactose	Lactose	Les espèces
S1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus sp</i>
S2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus sp</i>
S3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		<i>Lactobacillus sp</i>
S4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus sp</i>
S5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus Brevi</i>
S6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus Brevi</i>
S7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus Plantarum</i>
S8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus sp</i>
S9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus plantarum</i>
S10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus Brevis</i>
S11	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus Plantarum</i>
S12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Lactobacillus Brevi</i>
S13	-	-	+	-	-	-/+	-	-	-/+	-/+	-/+	-/+	<i>Lactobacillus Plantarum</i>
S14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>Streptococcus Thermophilus</i>
S15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>Streptococcus Thermophilus</i>
S16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>Streptococcus Thermophilus</i>
S17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>Streptococcus Thermophilus</i>
S18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>Pediococcus Pentasaceus</i>
S19		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Streptococcus Thermophilus</i>
S20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>Streptococcus Thermophilus</i>
S21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-+	-	-	<i>Streptococcus Thermophilus</i>
S22	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc Lactis</i>
S23	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc Lactis</i>
S24	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc Lactis</i>
S25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc Lactis</i>
S26	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc Mesentéroïdes ssp Dextrnicum</i>
S27	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc Lactis</i>
S28	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc Lactis</i>
S29	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Leuconostoc Lactis</i>

## Résultat et interprétation

On observe une diversité des bactéries lactiques présente dans notre "jben" .En effet sur 29 souches isolées : *Lactobacillus sp* (5 souches), *Lactobacillus brevis* (4 souches), *Leuconostoc lactis* (7 souches) , *Streptococcus thermophilus* (7 souches), , *Lactobacillus plantarum* (4 souches), *Leuconostoc mesenteroide ssp dextranicum* et *Pediococcus pentasaceus* (1 souche)



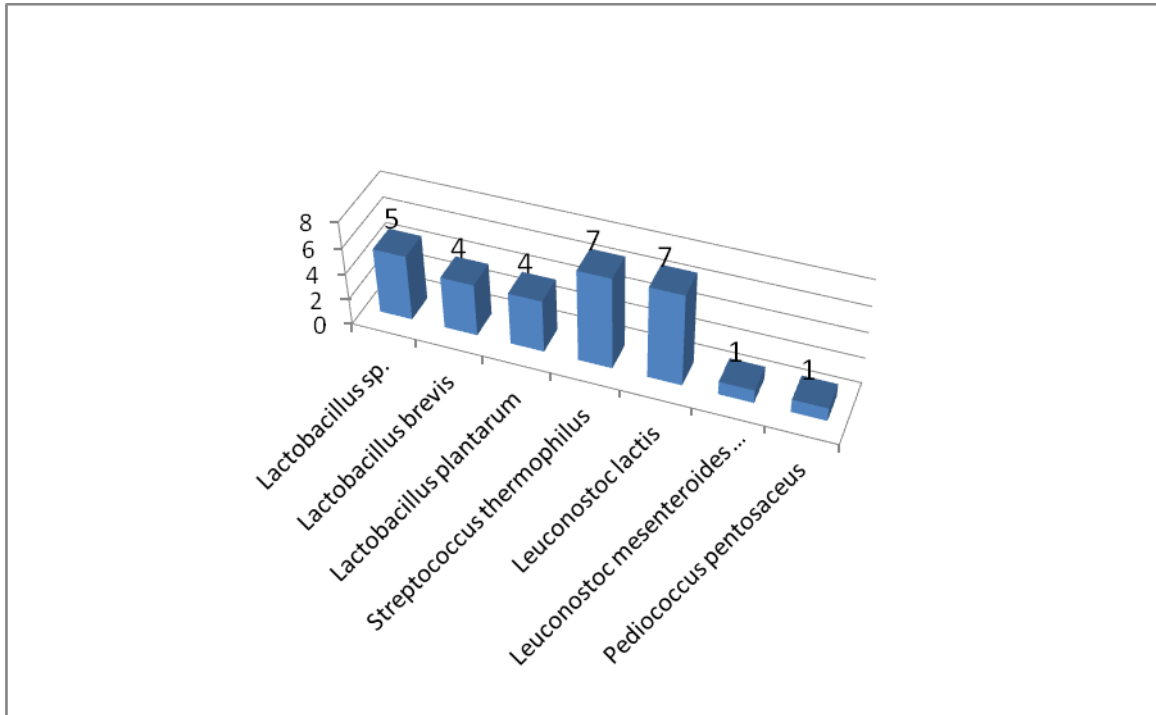
**Figure 20** : le profile fermentaire de résultat effectuée sur microplaque



Couleur bleu résultat négatif



Couleur jaune dégradation du sucre



**Figure 21 :** Pourcentage des espèces lactique dans "Jben"

On remarque la dominance des espèces *Leuconostoc lactis* et *Streptocoque thermophilus* par ailleurs *Pediococcus pentaseus* et *Leuconostoc mesenteroides ssp* sont moins fréquents

# Discussion

### Discussion:

D'après leurs caractéristiques morphologiques et biochimiques, les bactéries lactiques isolées appartiennent aux genres suivants : *Lactobacillus* (41%), *Leuconostoc* (27%), *Streptococcus* (27%) et *Pediococcus* (3%).

Ces résultats sont différents de ceux de Ouadghiri(2005) et Ouadghiri( 2009) qui a trouvé beaucoup moins de lactobacilles mais le même nombre à peu près de *Leuconostoc* ,

( 34%), *Lactococcus* (22%), *Leuconostoc* (27%) et *Enterococcus*(11%).

Le genre *Lactobacillus* comprend trois espèces : *Lactobacillus sp* (avec 17%), *Lactobacillus Brevis* (14%), *Lactobacillus Plantarum* (14%). Le genre *Leuconostoc* comprend deux espèces *Leuconostoc Lactis* (avec 24%) et *Leuconostoc mesentériode ssp dextranicum* (3%) *Streptococcus thermophilus* (24%), *Pediococcus Pentaseus* (3%),

Le genre *Lactobacillus* est le plus dominant, vient après les *Leuconostoc* . Les travaux de Ftichenti, (1979) montre aussi la dominance du genre *Lactobacillus* et *Leuconostoc* . D'après Toutaoui et Morrakchi( 1983) ces bactéries sont les principales agents responsables de l'acidification et la conservation du lait

L'espèce *Lactobacillus plantarum* est présente d'une façon abondante, d'après Albenzio et al., 2001, Amarita et al., 2001 cette espèce contribue au développement de l'arôme et selon Ouadghiri 2005 elle participe à la production d'agents antimicrobiens qui joue un rôle protecteur du "jben" .

Les espèces *Lactobacillus brevis* et *Lactobacillus sp* aussi sont importants dans le « jben » étudié, ces résultats sont conforme avec ceux de Boumediene,(2013) ) qui a utilisé « Hakka » pour la fabrication du jben .. Mais cet auteur a trouvé des *Lactococcus* alors qu'ils sont absents dans nos isolats. Dans une autre étude, il a été rapporté que la microflore dominante du "jben" sont les espèces de *Lactobacillus lactis* , *Lactococcus casei* (Hamama,1997).

Parmi le genre *Leuconostoc*, l'espèce *Leuconostoc lactis* est la plus dominante , *Leuconostoc mesentéroide ssp dextranicum* est moins fréquent. Dans les travaux de Ftichenti(, 1979)., l'espèce la plus présentée est *Leuconostoc mesenteroides* et *Leuconostoc dextranicum* ,alors que *Leuconostoc lactis* sont moins fréquentes.



## Discussion

---

*Streptocoque thermophilus* est largement présent. Les travaux de Ftichenti,( 1979) montre que les espèces de Streptocoques sont les plus fréquents dans le lait et les fromages surtout *Streptocoque lactis* ,*Streptocoque faealis* et *Streptocoque thermophilus*.

La seule souche cocci en tétrade identifiées est *Pediococcus pentasaceus*.

L'absence des Enterococcus qui sont des germes indicateurs de contamination fécales prouve que les conditions hygiénique avant pendant et après la fabrication sont plus ou moins respectés ou alors nos souches lactiques sont productrices de bactériocine qui sont des inhibiteurs de bactéries indésirables (Benkerroum et al., 2000) . Bien que cette caractéristique n'a pas été vérifiée dans cette étude.

Aussi d'après Yaakoubi et al, (2009) l'acidification due à la présence des bactéries lactiques dans le "Jben" ne permet pas le développement et la propagation de *Listeria monocytogènes*.

Les étapes non standardisées du processus de fabrication du "Jben" donne un produit de qualité hygiénique variable, ce qui peut être un vecteur pathogène responsables de maladies graves liées aux aliments comme *Listeria monocytogènes* (Benkarroum et al., 2002).

# **Conclusion**

### **Conclusion :**

Cette étude nous a permis de connaître la flore lactique qui peut exister dans un fromage traditionnel Algérien le «Jben ». Ce produit fabriqué à partir du lait cru qui est coagulé par une présure traditionnelle «Hakka" contient une grande diversité d'espèces microbiennes lactiques.

En effet sur 29 souches isolées à partir de 4 échantillons, 41% appartiennent au genre *Lactobacillus* avec les deux espèces *Lb brevis* et *Lb plantarum* le genre *Streptococcus thermophilus* aussi est fréquent (27%) ainsi que le genre *Leuconostoc* (27%) avec les deux espèces et sous espèces *Leuconostoc lactis*, et *Leuconostoc mesenteroides ssp dextranicum*, le genre *Pediococcus* existe aussi en très faible nombre (3%).

Le produit étudié ne contient pas d'entérocoques qui sont des germes indicateurs de contamination fécale d'où le respect des règles d'hygiène pendant la collecte du lait et pendant la fabrication. Dans le fromage, le genre *Lactococcus* est absent aussi, ce qui est anormal puisque c'est les lactocoques qui permettent l'acidification et la fermentation spontanée des fromages. Il est probable que les lactocoques sont confondus avec les *Leuconostoc*.

Pour cela nous recommandons que nos souches subissent une caractérisation moléculaire c'est-à-dire une PCR pour confirmer l'identification phénotypique.

# **Références bibliographiques**

- **Aissaoui Zitoun O., Zidoune M.N.,** 2006. Le fromage traditionnel algérien "bouhezza". Séminaire d'Animation Régional. ' Technologies douces et procédés de séparation au service de la qualité et de l'innocuité des aliments ',INSAT – Tunis (communication orale), Tunisie / 27 – 28 – 29 novembre Actes des sommaires. Pp 118 à 124.
- **Alais. C.-** Sciences du lait: Principes et techniques laitiers. IVe édition, Ed. SEPARC, Paris, 1984,814 p.
- **Albenzio, M., Corbo, M.R., Rehman, S.U., Fox, P.F., De Angelis, M., Corsetti, A., Sevi, A. and Gobetti, M.** (2001). Microbiological and biochemical characteristics of Canestrato Pugliese cheese made from raw milk, pasteurized milk or by heating the curd in hot whey. *Int. J. Food Microbiol.* **67**: 35–48.
- **Amarita, F., Requena, T., Taborda, G., Amigo, L. and Pelaez, C.** (2001). *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum* initiate catabolism of methionine transamination. *J. Appl. Microbiol.* **90**: 971–978.
- **Amiot, J., Fournier, S., Lebeuf, Y., Paquin, P. et Simpson, R.** (2002). Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyses du lait IN science et technologies du lait transformation du lait par Vignola Carole L.presse internationale polytechnique, 1- 60
- **Axelsson. L.,** 2004. Classification and physiology. In : *Lactic acid bacteria: Microbiological and functional aspects* ((Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). 3e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. 1-66
- **Badis, A., Guetarni, D., Kihal, M., Ouzrout, R.** (2005). Caractérisation phénotypique des Bactéries lactiques isolées à partir de lait de chèvre de deux populations locales "Arabia et Kabyle». *Scien &Tech*, **23** : 30-37
- **Bencharif, A.,** 2001. Stratégies des acteurs de la filière lait en Algérie: états des lieux et problématiques. *Options Méditerranéennes Série B. Etudes et Recherches* 32: 25-45.
- **Bendimerad N.,**(2013). Caractérisation phénotypique technologique et moléculaire d.,isolats de bactéries lactiques de laits crus recueillis dans les régions de l'Ouest Algérien. Essai de fabrication de fromage frais type «Jben».Thèse de Doctorat, Université de Tlemcen. Algérie. P 05.

- **Benkerroum, N., Oubel, H., Zahar, M., Dlia, S., & Filali-Maltouf, A.** (2000). Isolation of a bacteriocin-producing *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* and application to control *Listeria monocytogenes* in Moroccan jben. *Journal of Applied Microbiology*, 89(6), 960-968.
- **Benkerroum, N., Oubel, H., & Ben Mimoun, L.** (2002). Behavior of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in yogurt fermented with a bacteriocin-producing thermophilic starter. *Journal of Food Protection*®, 65(5), 799-805
- **Benkerroum, N. and Tamime, A.Y.** (2004). Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben, smen) to small industrial scale. *Food Microbiol.* 21: 399–314
- **Bouadjaib, S.** (2014). *Etude physico-chimique du produit laitier traditionnel du Sud algérien «Jben» Recherche du pouvoir antimicrobien des bactéries lactiques* (Doctoral dissertation).
- **Boumedienne K,** 2013., Recherche des bactéries lactiques productrice des bactériocines et l'étude de leur effet sur des bactéries néfastes. Université de Tlemcen. P50.
- **Bourgeois, C. M., Larpent, J.P.** (1996). Aliments fermentés et fermentation alimentaire, Microbiologie alimentaires. Tome 2. Ed © Technique Documentation Lavoisier, Paris.
- **CARR, F. J., CHILL, D. ET MAIDA, N.** (2002). The lactic acid bacteria: A literature survey *Critical Rev. Microbiol.* 28: 281-370.
- **Chammas, G.I., Saliba, R. and Béal, C.** (2006). Characterization of the fermented milk-Laban with sensory analysis and instrumental measurements. *J. Food Sci.* 71: S156–S162.
- **DELLAGLIO, H., de Roissart, H., Torriani, S., Curk, M.C., et Janssens, D.,** 1994. Caractéristiques générales des bactéries lactiques. In: de Roissart, H., Luquet, F.M. (Eds.), *Les bactéries lactiques: aspects fondamentaux et technologiques*. Loriga, Uriage, pp. 25-116.
- **Desmazeaud, M.** (1996). L'état des connaissances en matériel de nutrition de bactéries lactiques. *le lait*, 63 : 267-16.
- **Dridier D., Prevost H.,** 2009. Bactéries lactiques physiologie, métabolisme , Genomique et Application industrielle. Ed. Economsa 49 rue Harica 75015Paris: pp381-427.

- **Drouault; S. et. Corthier**, 2001. Health effects of lactic acid bacteria ingested in fermented milk. *Vet. Res.*, 32:101-117.
- **F.A.O**, 1998. Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Rome(Italie).Collection FAO : Alimentation et nutrition °28ISBN 92-5-20534-6.
- **Federighi, M.** (2005). Bactériologie Alimentaire compendium d'hygiène des aliments.2ème Edition, Economica. 292 pages.
- **Fatichenti, F., Deiana, P., Farris, G. A., & Soggia, G.** (1979). Études microbiologiques sur le lait et le fromage de chèvre en Sardaigne. Note II: streptocoques, lactobacilles et leuconostoc. *Le lait*, 59(587), 387-400.
- **Guizani,N.,Kasapis,S.,et Al Ruzeiki,M.**,2001. Microbial, chemical and rheological properties of laban (cultured milk). *International Journal of Food Science and Technology* 36: 199-205.
- **Hadef.S.2012.** Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales. : Microbiologie Appliquée, Université Kasdi Merbah-Ouargla.88p
- **Hamama, A.** (1997). Improvements of the manufacture of traditional fermented products in Morocco: case of Jben (Moroccan traditional fresh cheese) In: *Emerging Technology Serie.sFood Processing Technologies for Africa* (Dirar, H.a., Ed.), pp. 85–102. UNIDO, Vienna.
- **Hassan A.N. ET Frank J.F., 2001.** Starter Cultures and their use. In: *Applied Dairy Microbiology* (Marth E.H. et Steele J.L.) 2e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. 151-205.
- **Holzappel, W.H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J. and Schillinger, U.** (2001). Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *Am. J. Clin. Nutr.*, **73(suppl)**: 365S–73S.
- **Hogg T., 2005.** Essential microbiology. John Wiley & Sons, Ltd. 188-190
- **Jeantet R., Croguennec T., Schuck P., Brule G., 2008.** Sciences des aliments. vol.2. Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris, 449p.
- **Khedid,K., Faïd,M., Mokhtari,A., Soulaymani,A Et Zinedine,A.**(2006).Characterization of lactic acid bacteria isolated from the one humped camel milk produced in Morocco.*Microbiol.Res.*10 : 10-16. bacteria and yeast.
- **Khalid N.M. ET Marth E.H., 1990.** Lactobacilli, their enzymes and role. In: *Ripening and spoilage of cheese. Rev. Dairy Sci.* **73** : 158-167.

- **Klaenhammer, T. R.** (1988) Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Biochimie*.**70**: 337-349.
- **Koussou, M., Duteurtre, G., et Mopota, L.,** 2007. Consommation de l'ans les bars laitiers de la ville de N'Djamena au Tchad. *Elev Med. Vet. Pays Trop.*60: 39-4ait d4.
- **Lahtinen, S. J., Forssten, S., Aakko, J., Granlund, L., Rautonen, N., Salminen, S., ... & Ouwehand, A. C.** (2012). Probiotic cheese containing *Lactobacillus rhamnosus*
- **Lairini, S., Beqqali, N., Bouslamti, R., Belkhou, R., & Zerrouq, F.** (2014). Isolement des bactéries lactiques à partir des produits laitiers traditionnels Marocains et formulation d'un lait fermenté proche du Kéfir. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 10(4), 267-277.
- **Lamontagne Michel claud., charmpagne J., Reitz A., Salvain M., Nancy G., Maryse L., Julie J. et Ismail F.** (2002). Microbiologie de lait. Ecole polytechnique de Montréal.
- **Leclerch., Gaillard F L. ET Simone T M., 1994.** Les grands groupes de bactéries. In : Microbiologie générale : la bactérie et le monde microbien. DOIN. Paris. 445.
- **Leveau J.Y. et Bouix M., 1993.** Microbiologie industrielle : les microorganismes d'intérêt industriel. Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 85-87.
- **Matamoros, S.** (2008). *Caractérisation de bactéries lactiques psychrotrophes en vue de leur utilisation dans la biopréservation des aliments: étude physiologique et moléculaire des mécanismes d'adaptation au froid* (Doctoral dissertation, Nantes).
- **Mechai, A., Debabza, M., & Kirane, D.** (2014). Screening of technological and probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from Algerian traditional fermented milk products. *International Food Research Journal*, 21(6).
- **Medouni, Y., Boulahchiche, N., et Brahimi, R.,** 2005. Rôle de la femme rurale dans le système de production agropastorale. Cas de la fraction Ouled Baida de la zone d'El Guedid Région de Djelfa (steppe centrale). Option : Méditerranéennes, Série A , n°70.
- **Nouani, A., Dako, E., Morsli, A., Belhamiche, N., Belbraouet, S. , Bellal, M.M., et Dadie, A.,** 2009. Characterization of the purified coaguland extracts derived from artichoke flower (*Cynara scolymus*) and from the fig tree latex (*Ficus carica* ) in light of their use in the manufacture of traditional cheeses in Algeria. *International Journal of Food Technology* 7:20-29..



- **Ouadghiri, M., Mohamed, A., Vancanneyt, M., Swings, J.** (2005). Biodiversity of lactic acid bacteria in Moroccan soft white cheese (Jben). *FEMS Microbiology Letters*, **251**:267–271
- **Ouadghiri, M.** (2009) .Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés « lben » et « jben » d'origine marocaine. thèse de doctorat. université mohammed v – agdal faculté des sciences rabat. 26-28
- **Penaud, S., Fernandez, A., Boudebbouze, S., Ehrlich, S. D., Maguin, E., & Van De Guchte, M.** (2006). Induction of heavy-metal-transporting CPX-type ATPases during acid adaptation in *Lactobacillus bulgaricus*. *Applied and environmental microbiology*, *72*(12), 7445-7454.
- **Pilet M.F., Magras C., Federigh M., 1998.** Bactéries lactiques. In : Manuel de bactériologie alimentaire (Sutra L., Federighi M., Jouve J.L.). Polytechnica. Paris. 235-260
- **PILET M.F., Magras C., Federigh M., 2005.** Bactéries lactiques. In : bactériologie alimentaire (Federighi M.). 2e Ed., Economica. Paris. 219-240
- **Poulain.,** 1994. Evaluation de la préparation commerciale des ferments lactiques inles bactéries lactiques T<sub>1</sub>. Aspects fondamentaux et technologiques. Ed. Lorica. Lavoisier:604p.
- **Poznanski, E., Cavazza, A., Cappa, F. and Cocconcelli, P. S.** (2004). Indigenous raw milk microbiota influences the bacterial development in traditional cheese from an alpine natural park. *Int. J. Food Microbiol*, *92*: 141–151
- **Priyanka, S. et Prakash, A.** (2009).Screening of Lactic Acid Bacteria for Antimicrobial Properties Against *Listeria monocytogenes* Isolated from Milk Products at Agra Region. *Internet Journal of Food Safety*, **11**:81-87
- **Rahali, V. and Menard, J.L.** (1991). Influence des variants génétiques de la Blactoglobuline et de la k-caséine sur la composition du lait et son aptitude fromagère. *Lait*, **71**: 275–297.
- **Roissart, H. et Luquet, F.M.** (1994). Les bactéries lactiques. Uriage, Lorica, France, 1 : 1- 286.
- **Sallofe coste.,** 1994. Lactifs acid bacteries. Dannone New Latter n°5 July.
- **Salmeron, J., de Vega, C., Pérez-Elortondo, F.J., Albisu, M. and Barron, L.J.R.** (2002). effect of pasteurisation and seasonal variations in the microflora of ewe's milk for cheese making. *Food Microbiol*, *19*: 167-174.

- **Salminen S., Wright A.V and Ouwehand A.C.,** 2004. Lactic Bacteria Microbiological and functional aspects Third edition Taylor et Francis Group. Boca Raton London New York.
- **Schirch, V. E. R. N. E., Hopkins, S., Villar, E. N. R. I. Q. U. E., & Angelaccio, S.** (1985). Serine hydroxymethyltransferase from *Escherichia coli*: purification and properties. *Journal of Bacteriology*, 163(1), 1-7.
- **Soryal, K.A., Zeng, S.S., Min, B.R. and Hart, S.P.** (2004). Effect of feeding treatments and lactation stages on composition and organoleptic quality of goat milk domiati cheese. *Small Ruminant Re.*, 52: 109–116.
- **Tamime A.Y., 2002.** Microbiology of starter cultures. In: Dairy microbiology handbook (Robinson R.K.). 3e Ed., John Wiley and Sons, Inc., New York. 261-366.
- **Tantaoui El Araki, A., et El Marrakchi, A.,**1987. Study of Moroccan dairy products lben and smen. *Journal of Applied Microbiology* 3: 211-220.
- **Touati, 1990.** chimique d'un fromage artisanal algérien "la klila". Mémoire d'ingénieur, INATAA, Constantine, Algérie, 83 p.
- Vignola, C. (2002). *Science et technologie du lait: transformation du lait*. Presses inter Polytechnique.
  
- **Yaakoubi, K., Benkerroum, N., Wiorowski, F., Sanson, F., Haydersah, J., & Chevallier, I.** (2009). Development of a multiwell antagonistic activity assay for the detection of bacteriocin production by lactic acid bacteria. *Journal of Rapid Methods & Automation in Microbiology*, 17(1), 32-45.
- **Zaidi O., 2002.**Caractérisation du fromage traditionnel bouhezza; caractérisation physicochimique et microbiologique. Mémoire d'ingénieur INATAA. Constantine, Algérie.51 p.
- **Zhang H. et Cai Y.,**2014. Lactic Acid Bacteria Fundamentals and Practice. Springer Dordrecht Heidelberg New York Pondon P:535.
  
- (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Bifidobacterium>)
- (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Enterococcus>)

## Références bibliographiques

---

- (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Lacobacillus>)
- (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Lactococcus>)
- (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Leuconostoc>)
- (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Pediococcus>)
- (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Streptococcus>)
- (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Leuconostoc>)

# **Annexes**

**Annexes:**

**Annexe 1:**

**Compositions des milieux de culture:**

**Milieu M17**

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

pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,1 ± 0,2.1

Autoclavage : 121°C pendant 15min

**• Milieu MRS (de Man Rogosa et Sharpe, 1960)**

Extrait de levure.....	5g
Extrait de viande.....	5g
Peptone.....	10 g
Acétate de sodium.....	5g
Citrate de sodium.....	2g
Glucose.....	20g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	2g
MgSO <sub>4</sub> .....	0.1 g
MnSO <sub>4</sub> .....	0.05 g
Agar.....	12g
Tween80.....	1 ml
Eau distillée q.s.p.....	1000 ml

pH=6.5±0.2 à 37°C Autoclavage : 121°C /15min

• **Milieu KMK (Kempler et Mc Kay, 1980)**

Extrait de levure.....	3 g
Biopolytone.....	2,5g
Glucose.....	5 g
Agar.....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml

pH= 6

• **Milieu M16 BCP (Thomas, 1973)**

Extrait de levure.....	2,5 g
Extrait de viande.....	5 g
Peptone.....	10 g
Acide ascorbique.....	0,5 g
Lactose.....	2 g
L-arginine.....	4 g
Pourpre de Bromocréso.....	10g
Agar-Agar.....	15 g
Eau distillée.....	1000 ml

pH 6,8 Autoclavage 120°C pendant 20 minutes

**Médium des plaques API**

Polypeptone .....	10 g
Extrait de levure .....	5 g
Tween 80 .....	1 ml
Phosphate dipotassique.....	2 g
Acétate de sodium .....	5 g
Citrate diammonique .....	2 g
Sulfate de magnésium.....	0,20 g
Sulfate de manganèse .....	0,05 g
Bromocrésol Pourpre .....	0,17 g

Eau déminéralisée 1000 ml. pH : 6,7-7,1

### **Lait écrémé:**

Lait en poudre écrémé.....	110 g
Eau distillée.....	1000ml
Extrait de levure.....	3g

Autoclavage 110°C pendant 10 minutes

### **• Eau physiologique peptonée**

Peptone.....	1g
Chlorure de sodium.....	8,5g
Eau distillée.....	1000 ml

### **• Eau physiologie 9 /ml:**

NaC.....	19g
Eau distillée.....	1000 m

### **Colorants**

#### **• Violet de gentiane au cristal**

Violet de gentiane.....	10g (ou 5g)
Phénol.....	20g
Ethanol à 0.95.....	100cm <sup>3</sup>
Eau distillée.....	1dm <sup>3</sup>

Les 3 premiers composants sont dans un premier temps dissous ensemble d'eau est ajoutée ensuite

#### **• Lugol**

Iode.....	5g
IO dure de potassium.....	10g
Eau distillée qsp.....	1g

#### **• Fuchsine de Ziehl**

Fuchsine bosique.....	10g
Phénol.....	50g
Ethanol à.....	0.510cm <sup>3</sup>
Eau distillée.....	1dm <sup>3</sup>

## **Annexe 2:**

### **Coloration du Gram : Technique**

- 1- Déposer une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame bien propre
- 2- Prélever une colonie bactérienne et la mélanger avec la goutte d'eau, sécher par passage rapide sur la flamme d'un bec benzène
- 3- Couvrir le frottis par du cristal violet .Laisser agir pendant 60 secondes
- 4- Laver l'excès avec de l'eau distillée
- 5- Couvrir de lugol .Laisser agir 30 secondes
- 6- Laver à l'eau distillée
- 7- Mettre de l'alcool, incliner la lame et laisser agir jusqu'à disparition complète de la coloration violette.
- 8- Laver à l'eau distillée
- 9- Couvrir avec de la fuschine et laisser agir pendant 15 secondes
- 10- Laver à l'eau distillée
- 11- Déposer une goutte d'huile à immersion sur le frottis et observer au microscope au grossissement x100. Les cellules Gram+ apparaissent violettes, contrairement aux cellules Gram- qui apparaissent roses.



## ملخص

في الجزائر، كما هو الحال في العديد من البلدان الأخرى من العالم، وهناك منتجات الألبان تتبع طريقة تصنيعها من التراث الثقافي للسكان. ويتم صنع هذه المنتجات من أجل الحفاظ على الحليب و إطالة مدة صلاحيته.

ومن بين منتجات الألبان التقليدية الجزائرية "الجبن"

تتميز 04 عينات من "الجبن" منطقة عين صفرا، مصنوعة من حليب البقر الخام الذي متخثر من قبل "حكة" ظاهريا لغرض عزل والتعرف على بكتريا حمض اللاكتيك الحاضر.

وقد كشفت الاختبارات الفسيولوجية والبيوكيميائية الكلاسيكية والسكريات اختبار من 29 سلالات معزولة، النقاء، وحددت هناك وجود وخاصة من نوع Lactobacilles وذلك بنسبة 41%، مع الأنواع الأكثر شيوعا هي: *Lactobacillus sp* (17%)، *Lactobacillus brevis* (14%)، *plantarum* *Lactobacillus* (14%)، ويأتي بعدها نوع *Leuconostoc* (28%) والتي تضم الأنواع التالية: *Leuconostoc lactis* (24%) و *Leuconostoc pediococcus pentaseus* (4%) *Streptococcus thermophiles* (28%) وهناك أيضا *Pediococcus* من نوع *mesentroides ssp dextranicum* (3%) ولكن مع معدل منخفض جدا (3%)

ونوع *Lactococcus* غير موجود هذا غير طبيعي لأن هذا النوع من البكتيريا ينشط تخمض وتخمير الحليب لإنتاج الجبن. وقال انه قد تم الخلط بينه وبين *Leuconostoc* أو *pediococci*

*Enterocoque* ليست كما في عينات و هذا النوع من بكتيريا مؤشر على تلوث البراز ويمكن القول بأن القواعد والاجراءات الصحية هي أكثر أو أقل تطبيقها خلال جمع الحليب وأثناء عمليات التصنيع

كلمات مفتاحية: الجبن ، بكتريا حمض اللاكتيك، وتحديد المظهري

## Résumé

En Algérie, comme dans plusieurs autre pays du monde, on trouve des produits laitiers dont le mode de fabrication découle de l'héritage culturel de la population. Ces produits sont issus de la transformation du lait dans le but de prolonger sa durée de conservation.

Parmi les préparations laitières traditionnelles algériennes le "Jben"

04 échantillons de "jben" de la région de Ain Sefra , fabriqué avec du lait cru de vache, qui est coagulé par « Hakka » sont caractérisés phénotypiquement dans le but d'isoler et identifier les bactéries lactiques présente .

Les tests physiologiques et biochimiques classiques et le test des sucres ont révélés que sur 29 souches isolées ,purifiées et identifiées il y a la présence surtout du genre Lactobacilles avec un taux de 41%, dont les espèces les plus fréquente sont : *lactobacillus sp*(17%), *lactobacillus brevis*(14%), *lactobacillus plantarum*(14%), vient après le genre *Leuconostoc*(28%) dont les espèces sont *Leuconostoc lactis*(24%) et *Leuconostoc mesentroides ssp dextranicum*(4%), puis *Streptococcus thermophilus*(28%) le genre *Pediococcus* existe aussi mais avec un taux très faible (3%) correspondant à une seule espèce *Pediococcus pentaseus*

Le genre *Lactococcus* est absent ce qui n'est pas normal car c'est ce genre de bactérie qui active l'acidification et la fermentation du lait pour produire le fromage. Il se pourrait qu'il ait été confondu avec les *leuconostoc* ou les *pediococques*

Le genre *Enterocoque* n'existe pas aussi dans nos échantillons comme c'est une bactérie indicatrice de contamination fécale on peut dire alors que les règles et mesures d'hygiène sont plus ou moins appliquées pendant la collecte du lait et lors des procédés de fabrication

**Mot clé:** jben, bactéries lactiques, , identification phénotypique

## Abstract

In Algeria, as in many other countries of the world, there are dairy products whose manufacturing mode derives from the cultural heritage of the population. These products are derived from the processing of milk for the purpose of extending its shelf life.

Among traditional Algerian dairy preparations the "Jben"

04 samples of "jben" from the Ain Sefra region, made with raw cow's milk, which is coagulated by "Hakka" are phenotypically characterized in order to isolate and identify the lactic acid bacteria present.

The classical physiological and biochemical tests and the sugars test revealed that the most frequent species of *lactobacillus sp* (17) were *Lactobacillus* species with a rate of 41%, of which 29 were isolated, purified and identified. ), *Lactobacillus brevis* (14%), *lactobacillus plantarum* (14%) followed by *Leuconostoc* (28%), *Leuconostoc lactis* (24%) and *Leuconostoc mesentroides ssp dextranicum* (4%) followed by *Streptococcus thermophilus* (28%) the genus *Pediococcus* also exists but with a very low rate (3%) corresponding to a single species *Pediococcus pentaseus*

The genus *Lactococcus* is absent, which is not normal because it is this kind of bacterium that activates the acidification and fermentation of milk to produce the cheese. It could have been confused with *leuconostoc* or *pediococci*

The genus *Enterococcus* also does not exist in our samples as it is a bacterium indicative of faecal contamination so it can be said that the rules and hygiene measures are more or less applied during the collection of the milk and during the manufacturing processes

**Keyword:** jben, lactic acid bacteria, phenotypic identification