

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université Abou Bekr Belkaid
Tlemcen Algérie



تلمسان الجزائر

جامعة أبي بكر بلقايد

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES
DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

*Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme
de Master en Biologie*

Option

Microbiologie

Présenté Par

M^{elle} BOUADJAIB Sarah

Thème

**Etude physico-chimique du produit laitier
traditionnel du Sud algérien «Jben»
Recherche du pouvoir antimicrobien des
bactéries lactiques.**

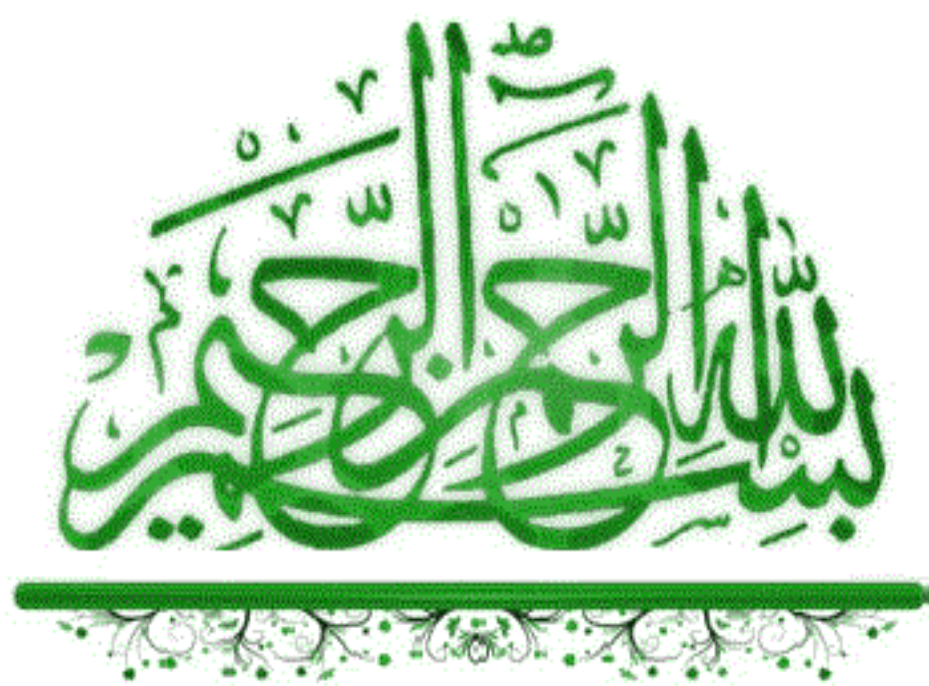
Soutenu le : 08/07/ 2013

Devant le jury composé comme suit :

- Mme BEKHCHI C. Maître de conférences A
- Mme. BELYAGOUBI N. Maître de conférences B
- M. BELYAGOUBI L. Maître Assistant A

Présidente
Examinatrice
Encadreur

Année Universitaire : 2012-2013



Dédicaces

*J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail réalisé grâce à l'aide de dieu
tout puissant*

A

*Celui qui ma toujours encouragé et soutenu durant toutes mes années d'études.
Merci pour ton amour et ta confiance totale...A toi très
cher papa.*

A

*Celle qui matant bercé, tant donné et tant enseigné, toi qui ma guidé Dans le
droit chemin, toi qui ma appris que rien est impossible...A toi
Ma cher maman.*

A

Mes chers sœurs : Hadjer, Fatiha , Asmaà

A

Mon cher frère Yazid Amine

A

Mes tants et, Mes oncles

A

Mon cher grand père Zinaï Hamza, que dieu bénéficie dans son vaste paradis

A

MA cher grand mère Achouria ,que dieu lui donne une long vie

A

*Mes chères amies: boudjemàa kheira, boudellal kheira, Asmaà, Saaida ,Aouicha
Mostapha ,Soufaine , Souad pour tous les BON moments que nous avons
partagées*

Enfin à tous ceux qui aiment la science et la recherche.

Sarah

Remerciements

Au terme de ce travail, il est agréable de présenter mes remerciements les plus sincères à Monsieur Belyagoubi. Larbi, pour m'avoir proposé ce sujet si intéressant et m'avoir accepté d'encadrer et d'orienter tout au long de mon travail avec leur judicieux conseils et sa constante disponibilité, c'est grâce à sa compétence et indulgence que ce travail a pu être réalisé.

Je remercie également Madame Bekhchi C. d'avoir acceptée la présidence du jury de mon travail, qu'elle trouve ici toutes mes expressions respectueuses. Nous la remercions également pour les souches de référence.

Je tiens à remercier Madame Belyagoubi Née Benhammou N. pour sa disponibilité à juger ce travail, je lui exprime ma profonde reconnaissance pour son aide précieuse.

Je tiens ensuite à remercier Monsieur Yazid Amine pour son aide technique, sa gentillesse et sa grande disponibilité et confiance.

Je remercie vraiment Monsieur Dahmani Abdelkader pour ses judicieuses conseils, ses chaleureux encouragements et plus particulièrement pour sa patience durant la réalisation de ce travail, et je remercie aussi Monsieur Djalal Farr Adheb.

Je remercie aussi l'ensemble du personnel travaillant au laboratoire du département de Biologie. Université de Tlemcen.

Mes remerciements vont également à mes enseignants qui m'ont accompagné pendant mon cursus universitaire.

Mes plus vifs remerciements à mes parents, surtout ma chère maman, ma famille, et mes amies.

Enfin j'adresse mes sincères remerciements à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

ملخص

في الجزائر يعتبر الجبن منتج لبني تقليدي حيث يتم استهلاكه إما في حالته أو يمكن تناوله جافا وبذلك يمكن حفظه لمدة أطول , يحتوى الجبن على مجموعة متنوعة من البكتيريا تنتج هذه البكتيريا عدة مركبات تعمل على تثبيط الميكروبات الضارة مشكلة بذلك خطا دفاعيا هاما مثل الأحماض العضوية، الماء المهدرج و البكتيريوسينات.

بينت التحاليل الفيزيائية والكيميائية أن الخصائص التي تم تحليلها هي في المعايير المقبولة. تم عزل خمسة وعشرين سلالات من بكتيريا حمض اللبنيك على الأوساط M17 و MRS في درجات حرارة 30°م و 45°م، حيث تم تحديد السلالات تبعا للخصائص المرفولوجية و الفيزيولوجية والبيوكيميائية إلى الأجناس:

Lactococcus (5 سلالات), *Leuconostoc* (11 سلالة) et *Lactobacillus* (1 سلالة),
Enterococcus (2 سلالة)

كما تم اختبار قدرة السلالات المعزولة على تثبيط نمو ستة بكتيريا ممرضة, *Escherichia coli*,
Listeria monocytogenes, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*,
Pseudomonas aeruginosa, *Micrococcus luteus* و ذلك بقياس قطر التثبيط تبين من هذا الاختبار أن القطر تراوح ما بين 1 و 50 ملم. من بين 25 معزولة اثنان (S_4 et S_{15}) لها قدرة عالية على تثبيط نمو البكتيريا الضارة وتم التعرف عليها بواسطة API 50 CH كأصناف *Lactococcus lactis*

يمكن للمنتجات اللبنية التقليدية أن تكون مصدرا لسلالات ميكروبية جديدة مضادة للميكروبات الممرضة
الكلمات المفتاحية الجبن ، التحاليل الفيزيوكيميائية بكتيريا لبنية، بكتيريا ممرضة، التضاد

Résumé

En Algérie, le Jben, le produit laitier traditionnel, est consommé soit tel qu'il est, ou après un séchage afin de prolonger sa durée de conservation. Il contient une microflore variée qui constitue une ligne de défense par la production d'acide lactique, de peroxyde d'hydrogène et de bactériocines.

Les analyses physico-chimiques ont montré que les propriétés analysées sont dans les normes.

Vingt cinq souches de bactéries lactiques ont été isolées sur les milieux M17 et MRS à des températures d'incubation de 30°C et 45°C. Les souches ont pu être identifiées aux genres : *Lactococcus* (5 souches), *Leuconostoc* (11 souches) et *Lactobacillus* (une souche). *Enterococcus* (2 souches)

Les diamètres des zones d'inhibition de six bactéries pathogènes *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Micrococcus luteus* varient entre 1 et 50 mm. Deux souches (S₄ et S₁₅) dont le pouvoir antimicrobien est élevé, appartiennent à l'espèce *Lactococcus lactis* d'après l'identification par les galeries API 50 CH.

Les produits laitiers traditionnels constituent une source de nouvelles souches antimicrobiennes.

Mots clés : Jben, Analyses physicochimiques, Bactéries lactiques, Bactéries pathogènes, Antagonisme.

Abstract

In Algeria, the Jben is consumed is such that it is, or after drying in order to prolong its shelf life. It contains a diverse microflora which constitutes a line of defense by the production of lactic acid, hydrogen peroxide and bacteriocins. it contains the mesophilic flora total and the lactic flora of this product traditional dairy have been carried out.

The physico-chemical analyzes showed that the properties are analyzed in the standards

25 strains of lactic bacteria have been isolated on the circles M17, MRS at temperatures of incubation of 30°C and 45°C and the strains could be identified to genera: *Lactococcus* (5 strains), *Leuconostoc* (11 strains) et *Lactobacillus* (one strain). *Enterococcus* (2 strains)

The diameters of the zones of inhibition of six pathogenic bacteria *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Micrococcus lutes* vary between 1 and 50 mm Two strains have a high activity compared with other strains isolated (S₄ and S₁₅).

Traditional products is a source of new microbial strains.

Words keys: Jben, physicochemical analysis, lactic bacteria, pathogenic bacteria, antagonism.

SOMMAIRE

	Page
Dédicace	I
Remerciements	II
ملخص	III
Résumé	IV
Abstract	V
Sommaire	VI
Liste des tableaux	XI
Liste des figures	XII
Liste des photos	XIII
Liste des abréviations	XIV
Introduction	1
Partie bibliographique	3
Chapitre I : Lait et produits laitiers	4
I.1. Lait	4
I.1.1- Définition	4
I.1.2- Consommation des produits laitiers	4
I.1.3- Composition physico-chimique du lait	4
I.1.4- Caractéristiques physiques et chimiques du lait	5
I.1.5- La microflore du lait	5
I.1.5.1- Flore originale	6
I.1.5.2- Flore pathogène	6
I.1.5.3- Flore psychrotrophe	6
I.2- les produits laitiers traditionnels	7
I.2.1- Bouhazza	7
I.2.2- Lghaunane	7
I.2.3- Takammrat	7
I.2.4- Le leben	7

I.2.5- La crème, la Zebda ou beurre frais.....	8
I.2.6- La Klila ou caséine desséchée	8
I.2.7- Fromages frais traditionnel (Jben)	8
I.2.7.1. . Définition	8
I.2.7.2. Préparation de fromage frais.....	9
I.2.7.3. Caractéristiques physico-chimiques du Jben.....	11
I.2.7.4. Microflore de Jben	11
Chapitre II : Les bactéries lactiques et bactéries pathogènes du lait	12
II.1.les bactéries lactiques	12
II.1.1. Définition	12
II.1.2. Classification.....	12
II.1.2.1. Le genre <i>Lactobacillus</i>	13
II.1.2.2. Le genre <i>Streptococcus</i>	13
II.1.2.3. Le genre <i>Lactococcus</i>	14
II.1.2.4. Le genre <i>Leuconostoc</i>	14
II.1.2.5. Le genre <i>Bifidobacterium</i>	14
II.1.3 Application industrielle des bactéries lactiques	15
II.1.3.1. Les forments lactiques naturels	15
II.1.3.2. Les forment lactiques sélectionnés	15
II.1.4 Les propriétés fonctionnelles et technologiques des bactéries lactiques	16
II.1.4.1. Activité acidifiante	16
II.1.4.2. Activité protéolytique	16
II.1.4.3. Activité lipolytique et formation de substances aromatiques	17
II.1.4.4. Formation des exopolysaccharides.....	17
II.1.4.5. Propriété probiotique.....	17
II.1.4.5.1.Définition d'un probiotique	17
II.1.4.5.2.Les bactéries probiotiques	17
II.1.4.5.3.Role d'un probiotique	18
II.2. Les bactéries pathogènes du lait	18
II.2.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	18
II.2.2. <i>Escherichia coli</i>	19
II.2.3. <i>Listeria monocytogenes</i>	19
Chapitre III : Substances antimicrobiennes	21

III. Substances antimicrobiennes	21
III.1- Les acides organiques	21
III.1.1- Définition	21
III.1.2- Rôle des acides organiques	22
III.2. les inhibitions dues au peroxyde d'hydrogène	22
III.3. Les bactériocines	22
III.3.1-Classification des bactériocines	23
III.3.1.1.La classe I Lantibiotique	23
III.3.1.2.Classe II Peptides non modifiés.....	23
III.3.1.3.Classe III Protéines.....	23
III.3.2- Mécanisme d'action	24
III.3.2.1.Les bactériocines de classeI	24
III.3.2.2.Les bactériocines de classeII	24
III.3.2.3.Les bactériocines de classe III.....	24
Matériels et méthodes	26
I. Analyses physicochimiques du fromage	27
I.1.Provenances de l'échantillon	27
I.2. Matière sèche	27
I.3. Mesure de pH.....	28
I.4. Acidité	28
I.5. Cendre.....	28
I.6 humidité du produit.....	29
I.7. Analyses des propriétés de réhydratation du fromage	29
I.7.1. La diffusibilité (Diffusibility or wettability)	29
I.7.2. La synérèse (séparation du sérum)	30
I.8. Matière grasse	30
I.9. Indice du fromage (Jben).....	31
I.9.1. Indices d'acide (IA)	31
I.9.2. Indices de saponification (IS)	31
I.9.3. Indice d'ester (IE).....	32
II. Isolement et identification des bactéries lactiques	33
II.1. Dénombrement de la flore mésophile totale	33

II.2. Isolement des bactéries lactiques	33
II.3. Conservation des souches	34
II.4. Identification des bactéries lactiques	34
II.4.1. Tests morphologiques	34
II.4.1.a- Coloration de Gram	34
II.4.1.b- Test état frais	34
II.4.2. Test biochimiques	34
II.4.2.1. Test catalase	34
II.4.2.2. Test esculine	35
II.4.2.3. Milieu Urée-Indole	35
II.4.2.4. Milieu Clark et Lubs	35
II.4.2.5. Milieu Mannitol-mobilité	35
II.4.2.6. Gélose TSI (Glucose-Lactose-Saccharose-H ₂ S)	36
II.4.2.7. Milieu Citrate	36
II.4.2.8. Type fermentaire	36
II.4.2.9. Effet de NaCl, de temperature et du pH	36
II.4.2.10. Thermorésistance	37
II.5. Galerie API 50 CH	37
III. Interactions bactériennes	37
III.1. Préparation des précultures des bactéries tests (pathogènes)	37
III.2. Interactions Bactéries lactiques / Bactéries pathogènes	38
<i>Résultats, interprétations et discussion</i>	39
I. Analyses physicochimiques du fromage	40
II. Dénombrement de la flore mésophile totale	41
III. Isolement des bactéries lactiques	42
IV. Identification des genres	44
IV.1. Examen macroscopique	44
IV.2. Examen microscopique	46
IV.3. Tests de température, pH, NaCl et Thermorésistance	48
IV.4. Type fermentaire et hydrolyse d'Esculine	51
IV.5. Tests biochimiques classiques	53
IV.6. Résultats du test des sucres galeries API 50 CH	55
V. Résultats d'antagonisme	56

V.1. Antagonisme bactéries lactiques / <i>Escherichia coli</i>	56
V.2. Antagonisme bactéries lactiques / <i>Staphylococcus aureus</i>	57
V.3. Antagonisme bactéries lactiques / <i>Klebsiella pneumoniae</i>	58
V.4. Antagonisme bactéries lactiques / <i>Listeria monocytogenes</i>	59
V.5. Antagonisme bactéries lactiques / <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	60
V.6. Antagonisme bactéries lactiques / <i>Micrococcus luteus</i>	61
Conclusion	65
Références bibliographiques	67
Annexe	80

Liste des tableaux

	Page
Tableau 01 : Composition du lait chez divers mammifères	5
Tableau 02 : Flore microbienne du lait	6
Tableau 03 : Les différents genres de bactéries lactiques et leurs principales caractéristiques	15
Tableau 04 : Classification des bactériocines de bactéries lactiques	23
Tableau 05 : Bactériocines de classe III produites par des bactéries lactiques	24
Tableau 06 : Souches utilisées dans le test antimicrobien.....	37
Tableau 07 : résultat des analyses physico-chimiques du Jben	40
Tableau 08 : Aspects macroscopiques et milieux d'isolement des souches	44
Tableau 09 : Aspects microscopiques des souches isolées	46
Tableau 10 : Tests de température, pH, NaCl et Thermorésistante	48
Tableau 11 : Type fermentaire et hydrolyse d'esculine	51
Tableau 12 : Résultats des tests biochimiques classiques d'identification des souches isolées	53
Tableau 13 : Résultats d'identification des souches isolées	54
 Tableaux annexes	
Tableau 14 : La composition de la galerie API 50 CH est reportée dans la liste des tests	
Tableau 15 : pH des échantillons.	
Tableau 16 : l'acidité de l'échantillon	
Tableau 17 : mesure de la matière sèche	
Tableau 18 : mesure de l'humidité du produit	
Tableau 19 : mesure diffusibilité du produit	
Tableau 20 : Dénombrement de bactéries lactiques à 30°C.	
Tableau 21 : Dénombrement de bactéries lactiques à 45°C.	
Tableau 22 : Dénombrement de la flore mésophile totale à 30°C	
Tableau 23 : Diamètre de la zone d'inhibition (en mm).	
Tableau 24 : Résultats d'identification des souches (S ₄ et S ₁₅) par galerie API 50 CH	

LISTE DES FIGURES

	Page
Fig. 01- Schéma de fabrication des produits laitiers traditionnels marocain	10
Fig. 02- Dénombrement des bactéries lactiques sur milieux MRS et M17 à 30 et 40°C....	42
Fig. 03- Résultats des interactions entre les souches des bactéries Lactiques et <i>Escherichia coli</i>	56
Fig. 04- Résultats des interactions entre les souches des bactéries lactiques et <i>Staphylococcus aureus</i>	57
Fig. 05- Résultats des interactions entre les souches des bactéries lactiques et <i>Klebsiella pneumoniae</i>	58
Fig. 06- Résultats des interactions entre les souches des bactéries lactiques et <i>Listeria monocytogenes</i>	59
Fig. 07- Résultats des interactions entre les souches des bactéries lactiques et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	60
Fig. 8- Résultats des interactions entre les souches des bactéries lactiques et <i>Micrococcus luteus</i>	61

LISTE DES PHOTOS

	Page
Photo 1. produit laitiers traditionnel (Jben).....	27
Photo 2. Le ballon d'essai (l'échantillon + potasse alcoolique 0.5N) dans le bain marie.	32
Photo 3. [A] essai a blanc ,[B]Le ballon d'essai (l'échantillon + potasse alcoolique 0.5N)	32
Photo 4. Dénombrement de la flore mésophile totale sur le milieu P.C.A à 30°C	41
Photo 5. Dénombrement de la flore lactique sur le milieu MRS à 30°C	42
Photo 6. Observations microscopiques de bactéries lactiques	47
Photos 7. Effet de la concentration de NaCl sur la croissance de bactéries lactiques isolées	50
Photo 8. Effet de pH sur la croissance de bactéries lactiques isolées	50
Photos 9. Aspect de la culture en bouillon MRS, test d'hydrolyse d'esculine et type fermentaire	52
Photo 10. Tests biochimiques classiques	54
Photo 11. Tests des sucres de la galleries API 50 CH des souches [S ₄] et [S ₁₅].....	55
Photos 12. Activités antibactériennes des souches lactiques vis-à-vis : <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Escherichia coli</i>	61

Liste des abréviations

Introduction

Le lait fournit une matrice facilement accessible, riche en une grande variété de nutriments essentiels : des minéraux, des vitamines et des protéines faciles à digérer. Il est par conséquent essentiel à l'ensemble des fonctions du corps (**Steijns, 2008**). Avec les céréales, les viandes, les légumes et les fruits, les produits laitiers sont considérés comme des aliments riches en nutriments, ils fournissent de nombreux éléments nutritifs à teneur relativement faible en énergie et indispensables à la santé tout au long du cycle de vie (**Drewnowski, 2005**).

Le lait représente un milieu biologique fortement altérable par voie microbienne en raison de sa forte teneur en eau, de son pH voisin de sa neutralité et de sa richesse en composants biodégradables (lactose, protéines et lipides) (**Huyghebaert, 2006**). Lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, le lait cru contient peu de germes (10^3 germes par mL). Il s'agit de germes saprophytes et parmi eux, on trouve les Streptocoques lactiques (*Lactococcus*) et les Lactobacilles. Durant la traite et le stockage, le lait peut se contaminer par une flore variée constituée essentiellement de bactéries lactiques appartenant aux genres suivants : *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostocs* et *Lactobacillus* (**Bekhouche, 2006**).

Le lait de chèvre joue un rôle essentiel dans l'alimentation humaine, le plus consommée par la communauté rurale, alors qu'il est très peu disponible sur le marché. Commercialement, le lait de chèvre est transformé en produits tels que Raib, Lben, klila, la Crème, la Zebda ou beurre frais et le Jben (produits traditionnelles locale) (**Badis et al., 2004**).

Plusieurs variétés de fromage à partir du lait de vache, de chèvre et de brebis sont fabriquées à travers le monde, dans des fermes suivant des techniques traditionnelles, sans addition intentionnelle de levains, et sont généralement conçues comme des " fromages artisanaux". Les paramètres technologiques ont une grande influence sur les caractéristiques finales du fromage et jouent un rôle important dans la composition microbienne qui est considérée à la fois par les fabricants et les consommateurs comme une caractéristique spéciale des fromages artisanaux (**Randazzo et al., 2009**).

Les bactéries lactiques présentent un grand intérêt dans l'industrie (**Bekhouche et Boulahrouf, 2005**). Elles tiennent parmi les plus d'importants groupes de micro-organismes utilisés dans les fermentations alimentaires. (**Hikmate et al., 2012**).

De nos jours, la fermentation lactique est une activité grandissante tant industrielle qu'artisanale. Plusieurs microorganismes participent à la fabrication de produits laitiers

fermentés. Les bactéries lactiques (BL) homofermentaires composent majoritairement les ferments utilisés pour transformer le lactose en acide lactique. Elles sont également responsables, en partie, du goût et de la texture des produits laitiers fermentés (**Johnson et Steele, 2001**).

La propriété des bactéries lactiques à produire des composés antagonistes tels que les acides organiques (acide lactique et acide acétique), qui font baisser le pH dans le milieu, et par la synthèse de bactériocines qui renforce la conservation (**Bekhouche et Boulahrouf, 2005**) et la synthèse du peroxyde d'hydrogène est reconnue depuis très longtemps.

Par cette capacité, l'utilisation des bactéries lactiques permet de satisfaire les besoins de point de vue sanitaire en industrie alimentaire, et permet d'inhiber la prolifération des microorganismes pathogènes et ainsi d'assurer une bonne conservation des aliments (**Paul Ross et al., 2002**).

L'objectif de notre travail en première partie concernant :

- Des analyses physico-chimiques d'un produit laitier traditionnel à base de lait de vache (Jben) de la région machéria (wilaya de Naàma) va être réalisé.

Une deuxième partie est :

- D'isoler, purifier et identifier des souches de bactéries lactiques de ce fromage, et de tester leur pouvoir antimicrobien dans le but de sélectionner des souches inhibitrices possédant un pouvoir inhibiteur contre les germes pathogènes afin de préserver la santé et l'hygiène publique.

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Le Lait cru et les produits laitiers traditionnels

I .1 Le lait cru

I.1.1 Définition :

Le lait est un aliment nutritif pour les êtres humains, indispensable pour le nouveau-né, comme il s'avère très bénéfique pour l'adulte. Il constitue un milieu propice pour la croissance de nombreux micro-organismes, en particulier les bactéries pathogènes (**Chye et al., 2004**). Le lait sans indication de l'espèce animale de provenance correspond au lait de vache (**Larpen et al., 1997**).

Le lait apparaît comme un liquide opaque, blanc mat, plus moins jaunâtre selon sa teneur en β -carotènes et en matière grasse, il a une odeur peu marquée mais reconnaissable (**Cniel, 2006**).

I.1.2 Consommation des produits laitiers :

Malgré l'augmentation de la production laitière durant ces dernières années (triplement de la production entre 1969 et 2004), le niveau de consommation en lait et dérivés demeure faible (38 litres/an) comparativement aux pays du Maghreb; l'Algérie et la Tunisie où la consommation respective de lait est de 95 et 68 litres/an. Cette faible consommation peut s'expliquer par des habitudes alimentaires où le lait n'est pas souvent utilisé dans les préparations culinaires, et surtout par la faiblesse du pouvoir d'achat. De plus, le lait n'est pas accessible pour de nombreux ménages surtout en milieu rural (**Haut Commissariat au Plan, 2004**) in (**Ouadghiri, 2009**).

I.1.3 Composition physique et chimique du lait cru :

Le lait est un substrat très riche, fournissant à l'homme et aux jeunes mammifères un aliment presque complet (**Larpen, 1997**). Il contient une forte proportion d'eau environ 87%. Le reste est représenté par l'extrait sec (environ 130g par litre). Les principaux constituants de cet extrait sec (**Tableau 01**) : les lipides, les glucides, les protides, les vitamines et les éléments minéraux (Ca^{2+} , Na^+ , K^+ , Mg^{2+} et Cl^-) (**Larpen, 1997**).

Le lait contient également des anticorps, des hormones et peut parfois contenir des résidus d'antibiotiques (**Vilain, 2010**).

Tableau 01 : Composition du lait chez divers mammifères (**Dillon, 2008**).

Composition moyenne du lait en gramme par litre								
	Eau	Extrait sec	Matière grasse	Protéines			Glucide : lactose	Matières minérales
				Totale	Caséine	albumine		
Equidés								
Jument	925	100	10-15	20-22	10-12	7-10	60-65	3-5
Anesse	925	100	10-15	20-22	10-12	9-10	60-65	4-5
Ruminante								
Vache	900	130	35-40	30-35	27-30	3-4	45-50	8-10
Chèvre	900	140	40-45	35-40	30-35	6-8	40-45	8-10

I.1.4 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**). Ces caractéristiques varient également au cours de la période de lactation, de la traite ou de l'allaitement. Elles sont aussi tributaires de la nature de l'alimentation des animaux (**Coulon et al., 1995**).

Les principales propriétés physico-chimiques du lait sont représentées par sa densité, son point de congélation, son point d'ébullition et son acidité.

Sur le plan physique, c'est à la fois une solution (lactose, sels minéraux), une suspension (matières azotées) et une émulsion (matières grasses). Son pH est légèrement acide (pH compris entre 6,5 et 6,8 pour le lait de vache et entre 6,2 et 6,82 pour le lait de chèvre). Par contre, il est légèrement basique pour le lait humain (pH compris entre 7 et 7.5), l'acidité du lait augmente avec le temps suite à la transformation du lactose en acide lactique. Cette acidité permet d'avoir un indicateur du degré de conservation. Pour cela, on utilise le degré Dornic (°D) (**Hebboul et al., 2005 ; Dillon, 2008**).

I.1.5 Microflore de lait :

Le lait contient peu de micro-organismes lorsqu'il est prélevé dans des bonnes conditions, à partir d'un animal sain (moins de 5000 germes/ml) (**Larpen, 1997**).

Le lait dans les cellules du pis est stérile (Tolle, 1980), mais la glande mammaire, la peau du pis, le matériel de traite, la litière, la qualité de l'air et les pratiques des éleveurs sont des sources de contamination (Ménard et al., 2004).

Le lait cru peut être contaminé par différents microorganismes avant, pendant et après la traite ; selon Betsi et al., (1997) in Chaouch et Tebichek (2001) ils peuvent être classés dans les flores suivantes :

I.1.5.1 Flore originale

Lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, le lait contient essentiellement des germes saprophytes du pis et des canaux galactophores (Tableau 02) : Microcoques, Streptocoques lactiques et lactobacilles (Guiraud, 1998).

I.1.5.2 Flore pathogène

Elle présente un danger pour le consommateur c'est le cas de : *Mycobacterium bovis*, *M. tuberculosis*, *Bacillus cereus*, et des représentants des genres *Brucella* et *Salmonella* (Fukushima et al., 1984 in Bourgeois et al., 1996).

I.1.5.3 Flore psychrotropes

Il s'agit essentiellement de : *Acinetobacteres*, *Clostridium*, *Pseudomonas* et *Flavobacterium* qui se développent à une température de 3 à 7°C (Hicks et al., 1985; Jooste et al., 1985 in Leveau et Bouix, 1993). *Listeria monocytogenes* capable de se multiplier à une température comprise entre 0°C et 10°C est qualifiée de ce fait de psychrotrophe (Rosset, 2001).

Tableau 02 : Flore microbienne du lait (Leyral et Vierling, 2001).

Flore originale		Flore de contamination	
Bactéries des canaux galactophores	Bactéries contaminant le lait pendant et après la traite	Bactéries d'origine fécale	Bactéries présentes sur l'animal malade
Lactobacilles streptocoques lactiques	<i>Pseudomonas</i> , <i>Flavobacterium</i> <i>Enterbacteries</i> , <i>Microcoques</i> <i>Corynébactéries</i> , <i>Bacillus</i> <i>Streptocoques faecalis</i> et <i>Clostridium</i>	<i>Clostridium</i> Coliformes fécaux <i>Salmonella</i> <i>Yersinia</i> et <i>Campylobacter</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Brucella</i> et <i>Listeria</i>

I.2 Les produits laitiers traditionnels :

C'est l'augmentation de la production du lait durant certaines saisons et la difficulté de son préservation sous la forme fraîche a conduit au développement des technologies de production traditionnelle (Dharam et Narender 2007 in Lahsaoui, 2009).

La consommation des produits laitiers est également associée à des effets bénéfiques sur la santé en plus de leurs valeurs nutritionnelles (Takahiro *et al.*, 2007; Shan-na *et al.*, 2011).

La transformation du lait de chèvre en produits laitiers traditionnels algériens, tels que Raib Lben et Jben est réalisée via une fermentation spontanée sans l'ajout d'une entrée sélectionnée (Badis *et al.*, 2004).

Ces produits sont partie intégrante d'héritage algérien et ont une grande importance culturelle, médicinale, et économique. Ils ont été développés sur une longue période avec les compétences culinaires de fermes en plus de la conservation des solides du lait pour plus longtemps à température ambiante (Lahsaoui, 2009).

I.2.1 Bouhazza :

C'est un fromage typiquement fabriqué à partir de lait cru nonensemencé. Ceci se confirme par sa charge en flore mésophile et de streptocoque lactique, ces germes sont responsables surtout de la diminution concomitante du pH et de l'augmentation de l'acidité (Aissaoui *et al.*, 2006 in Lahsaoui, 2009).

I.2.2 Lghaunane :

Fromage fabriquée dans la région kabyle à partir du colostrum. La préparation se fait dans un terrin en terre cruite enduit d'huile d'olive dans lequel sera découpé et prêt à être consommé (Agroligne, 2001 in Lahsaoui, 2009).

I.2.3 Takammart :

Fromage de Hoggar ; sa fabrication se fait par introduction d'un morceau de caille de jeunes chevreaux dans le lait, après quelques heures la caille est retirée à l'aide d'une louche.

I.2.4 Le leben :

Le leben ; c'est du lait débarrassé de sa crème, et qui a subi ensuite une fermentation lactique, l'acide lactique produit provient du dédoublement de la molécule de lactose par l'action du bacille lactique.

L'acide lactique à la propriété, lorsqu'il se forme en excès, d'amener la coagulation de la caséine du lait. Cette coagulation est d'autant plus active que la température ambiante est plus élevée (**Bendanou, 1981**).

I.2.5 La crème, la Zebda ou beurre frais :

Selon la norme du Codex Alimentarius, le beurre est un «produit gras dérivé exclusivement du lait et/ou de produits obtenus à partir du lait, principalement sous forme d'une émulsion du type eau dans huile». Il est obtenu par barattage de la crème du lait (**Luquet et Corrieu, 2005**).

Elle contient presque la totalité des lipides du lait et de 2,7 g de protéines pour 100 g. Le beurre est fabriqué à partir de la crème (le barattage) et il contient 0,8 g de protéines pour 100g (**Vilain, 2010**).

I.2.6 La Klila ou caséine desséchée :

La Klila est un fromage ferment produit empiriquement dans plusieurs région de l'Algérie, il est fabriquée par un chauffage relativement modérée (55 à 75C°) du Leben jusqu'à ce que le Lben est caille (10 à 15 min), le caille est ensuite égouttée spontanément ou presse à l'aide d'une pierre, le fromage obtenu est consommée tel qu'il est frais au après un séchage il est utilisée comme un ingrédient après réhydratation dans les préparations culinaire traditionnel.

I.2.7 Fromages frais traditionnel (Jben) :

I.2.7.1 Définition :

Selon la norme du Codex Alimentarius et la norme internationale FAO/OMS, le fromage frais ou non affiné est du fromage qui est prêt à la consommation peu de temps après fabrication. Aux termes de la réglementation française, la dénomination «fromage» est réservée à un produit fermenté ou non, obtenu par coagulation du lait, de la crème ou de leur mélange, suivie d'égouttage. Tous les fromages frais ont une DLC de 24 jours (**Luquet et Corrieu, 2005**).

Le « Jben » est le fromage frais le plus connu et consommé au Maroc 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 au Maroc sous la dénomination populaire commune de "Jben" (**Benkerroum et Tamime 2004**).

I.2.7.2 Préparation de fromage frais :

A propos, un fromage Jben variété molle est produit selon un protocole traditionnel qui comprend la coagulation présure de lait cru entier de vache, à laquelle a été ajouté un sel dans une proportion de 10-20 NaCl par litre de lait (**Mennane et al., 2007**).

D'une manière générale, le fromage frais commercialisé est fabriqué soit à partir du lait de vache ou du lait de chèvre. Le processus de fabrication nécessite trois grandes étapes essentielles (**figure 1**): la maturation, la coagulation et l'égouttage (**Randazo et al., 2009**)

➤ la maturation : c'est l'incubation du lait cru à température ambiante pendant un temps variable de façon à favoriser la multiplication d'une flore lactique qui va jouer un rôle important dans l'acidification du lait. Cette maturation peut être spontanée ou provoquée par adjonction de levains. Le recours à des levains artificiels du commerce n'est cependant pas toujours une nécessité absolue, car le fermier producteur de lait à lui-même la possibilité de cultiver un levain naturel à partir de la flore contenue dans son propre lait.

➤ La coagulation : c'est une opération qui vise à coaguler le lait au moyen de la présure (emprésurage) ou de toute autre enzyme coagulante. L'activité coagulante est déterminée par la force de présure, la température du lait et son acidité. Après l'emprésurage, le lait est abandonné au repos à température ambiante pendant 6 à 10 heures. Il va prendre en masse (caillage) avec une consistance plus ou moins ferme selon le degré d'acidité développé.

En réalité, le coagulum est obtenu par deux modes de coagulation : la coagulation dite lactique et celle engendrée par l'action de la présure. Ces deux modes ont une action simultanée sur le lait avec cependant une prédominance plus ou moins marquée de l'un ou l'autre selon que le fromager souhaite obtenir une pâte à caractère plus présure ou à caractère plus lactique.

➤ L'égouttage : un des buts essentiels de cette opération est de régler la teneur en eau du fromage. Il permet l'élimination de la plus grande partie du sérum qui imprègne le coagulum. L'égouttage est amorcé dans des moules qui confèrent au fromage sa forme. La nature du gel influe sur la conduite de l'égouttage. Un gel lactique subit un égouttage spontané et le caillé a par conséquent une forte humidité. Cependant, un gel présure est un gel compact, solide ou

l'égouttage ne peut avoir lieu qu'après certaines interventions telles des actions mécaniques de pression.

Suivant le goût du fromager, le salage peut être fait. C'est une opération importante dans la fabrication des fromages. Elle a des effets multiples : elle améliore l'égouttage en le complétant, elle oriente et sélectionne le développement microbien et relève la saveur de la pâte (**Benkerroum et Tamime 2004**).

Ce type de fromage est très apprécié par les consommateurs et pourraient être promus à l'échelle nationale et internationale, si elle sera fabriquée sur une grande échelle en respectant leurs caractéristiques organoleptiques, car il a un goût salé, légèrement acide et agréables propriétés organoleptique (**Mennane et al., 2007**)

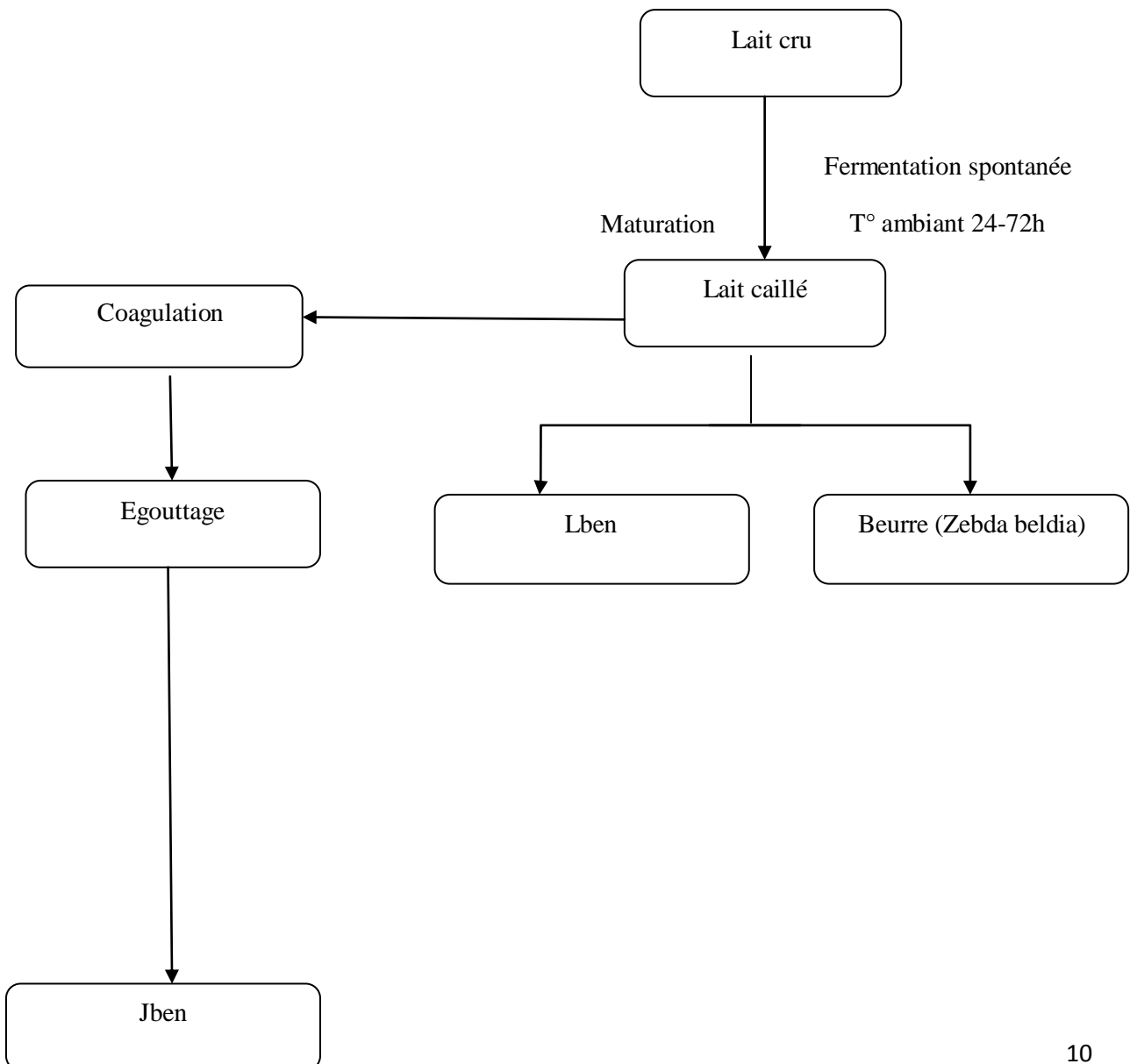


Figure N° 01: Schéma de la fabrication des produits laitiers traditionnels
(Benkerroum et Tamime, 2004).

I.2.7.3 Caractéristiques physiques et chimiques du Jben :

le fromage frais « Jben » ne présente pas de caractéristiques définies à cause 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 cru qui à son tour dépend de la race 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 variables du « Jben ». Cependant, les matières solides totales du « Jben » 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 en « Jben », ils sont directement influencés par les variations des dites matières solides (Benkerroum et Tamime 2004).

De nos jours, Jben est également préparé à partir de lait pasteurisé. Les caractéristiques finales d'un Jben typique sont variables et affectées par le préparation du fromage (Ouadghiri et al., 2005).

I.2.7.4 Microflore de Jben :

La composition microbiologique du fromage dépend de celle du lait de départ, du processus de fabrication qu'il a subi et de l'âge du fromage (Ercolini et al., 2009). Généralement, elle est dominée par les bactéries lactiques en l'occurrence les *Lactococcus* et les *Enterococcus* qui influencent les caractéristiques sensorielles du produit fini (Randazzo et al., 2009).

Chapitre II : Bactéries lactiques et bactéries pathogènes du lait

II.1 les bactéries lactiques

II.1.1 Définition :

Bien avant que l'on soit conscient de l'existence des bactéries lactiques, elles n'ont été utilisées que récemment dans la conservation des aliments à base de lait, de viande, de poissons, de légumes et de fruits (**Paul Ross et al., 2002**). La présence de bactéries lactiques est responsable de l'acidification du lait et de la maturation de la crème (**De Roissart et Luquet, 1994**).

Elles forment un groupe hétérogène composé de coques et de bacilles, dont la principale caractéristique est la production d'acide lactique à partir de la fermentation des sucres (**Badis et al., 2005**).

Les bactéries lactiques regroupent les bactéries à coloration de Gram positif, généralement immobiles asporulées et micro-aérophiles. Elles ne possèdent ni catalase, ni nitrate-réductase, ni cytochrome-oxydase.

Ces bactéries montrent des exigences nutritionnelles complexes en glucides fermentescibles, en acides gras, en acides aminés, en peptides, en vitamines et en sels, leur classification est réalisée en fonction de leur morphologie, de leur type de fermentation et de leur température optimale de croissance.

Elles sont ubiquistes, et on les trouve dans différentes niches écologiques comme le lait et les produits laitiers, les végétaux, la viande, le poisson, les muqueuses humaines et animales et dans le tractus digestif (**Drouault et Corthier, 2001**).

Les bactéries lactiques peuvent être divisés en deux groupes homofermentaires et hétérofermentaires basées sur les produits fabriqués à partir de la fermentation du glucose. (**Priyanka et Prakash, 2009**).

- Homofermentaires : l'acide lactique est le seul produit de la fermentation du glucose.
- Hétérofermentaires : la fermentation du glucose aboutit à la formation d'acide lactique et d'autres composés : éthanol, CO₂ et autres acides organiques (**Priyanka et Prakash, 2009**).

II.1.2 Classification

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 (**De Roissart et Luquet, 1994; Holzapfel et al., 2001**).

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* et *Weissella* et *Bifidobacterium*.

II.1.2.1 Le genre *Lactobacillus* :

Les bactéries du genre *Lactobacillus* ont des aspects variés allant du bacille long et fin au coccobacille en passant par la forme bâtonnet court ou légèrement flexueux. Ils sont Gram positif, non sporulés, fréquemment associés en chaînettes et habituellement immobiles. Les lactobacilles se montrent généralement plus résistants au stress acide que les lactocoques (Siegumfeldt et al., 2000).

Les lactobacilles se répartissent en trois groupes selon leur profil fermentaire, d'après la classification de Kandler et Weiss (1986) :

Groupe I : il comprend les espèces homofermentaires obligatoires, c'est-à-dire produisant exclusivement de l'acide lactique à partir du glucose. Ce groupe est constitué d'environ 25 espèces, la plupart thermophiles (croissance à 45°C) dont *Lb. delbrueckii*, *Lb. acidophilus* et *Lb. helveticus*. La plupart des espèces sont présentes dans le lait et les produits laitiers.

Groupe II : ce sont les espèces hétérofermentaires facultatives, c'est-à-dire capables d'utiliser la voie hétérofermentaire dans certaines conditions comme une concentration en glucose limitante. Il est constitué d'une vingtaine d'espèces dont *Lb. casei*, *Lb. curvatus*, *Lb. sake* et *Lb. plantarum*, majoritairement mésophiles (Laurent et al., 1998).

Groupe III : il est constitué des espèces hétérofermentaires obligatoires, c'est-à-dire utilisant la voie des pentoses phosphates pour la fermentation des hexoses et des pentoses. C'est un groupe qui rassemble des espèces relativement hétérogènes, surtout mésophiles, comme *Lb. brevis*, *Lb. kefir* et *Lb. sanfransisco*, Outre leur présence dans les produits laitiers et carnés, certaines espèces se développent dans le tube digestif de l'homme, et participent à l'équilibre de la flore intestinale (Laurent et al., 1998).

II.1.2.2 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*). L'espèce thermophile *Streptococcus thermophilus* se différencie par son habitat (lait et produits laitiers), et son caractère non pathogène. Du fait de ses propriétés

technologiques, c'est la seule espèce considérée comme un streptocoque lactique (**Laurent et al., 1998**).

II.1.2.3 Le genre *Lactococcus* :

le genre *Lactococcus* est formé de bactéries à Gram positif dont les cellules, en forme de coques, sont associées par paires ou en chaînettes de longueur variable. Elles sont dépourvues de catalase et ne sont pas capables d'utiliser l'oxygène mais se multiplient en sa présence (anaérobies aérotolérantes). Ces bactéries sont thermosensibles et ne peuvent pas croître en présence de 6.5% de NaCl ou à pH 9.6. Leur température optimale de croissance s'étend de 25 à 35°C, respectivement pour les souches de *Lc. cremoris* et *Lc. lactis*. Les *Lactococcus* sont capables de croître à 10°C mais pas à une température supérieure à 40°C (**Dellaglio et al., 1994**).

II.1.2.4 Le genre *Leuconostoc* :

La famille des leuconostocaceae, contient des coques ovoïdes, pouvant être allongés ou elliptiques. Ce sont des cellules sphériques disposent en paire ou en chaîne, elles sont caractérisées par un métabolisme hétérofermentaire en convertissant le glucose en D-lactate et éthanol ou en acide acétique par la voie de transcétolase, elles sont incapables de dégrader l'arginine ce qui leurs distinguent des lactobacilles hétérofermentaires (**Gonzalez et al., 2007**).

On range habituellement les leuconostocs dans les anaérobies facultatifs, mais certains les considèrent comme des anaérobies aérotolérants. Ils sont exigeants et présentent souvent une auxotrophie pour les acides aminés, les peptides, les vitamines, les sels minéraux et les glucides (**Dellaglio et al., 1994**).

Ce genre comprend les espèces suivantes : *Ln. mesenteroides* avec ces sous espèces *mesenteroides cremoris* et *dextranicum* et *Ln. lactis* et *Ln. Pseudomesenteroides* et *Ln. paramesenteroides* (**Collins et al., 1993 ; Laease, 2005**).

II.1.2.5 Le genre *Bifidobacterium*

Les cellules de *Bifidobacterium* se caractérisent par leur forme très irrégulière, souvent en V et Y, mais pouvant être coccoïde. Elles se différencient des autres bactéries lactiques par leur caractère anaérobie, leur G + C % élevé, et la présence d'une enzyme, la fructose-6-phosphate phosphocétolase. Celle-ci leur permet de fermenter les hexoses en produisant de l'acide acétique et de l'acide lactique (rapport 3:2), ainsi qu'en moindre proportion de l'éthanol et d'autres acides organiques. Cette fermentation « lactique » a conduit à les rapprocher du groupe des bactéries lactiques. Leur température optimale de croissance est comprise entre 37°C et 41°C. Elles se développent à pH supérieur à 5. Elles sont isolées de l'homme et des animaux (**Laurent, 1998**).

Tableau 03 : Les différents genres de bactéries lactiques et leurs principales caractéristiques
(Laurent *et al.*, 1998).

Genre	Morphologie	Fermentation	Température optimale	Nombre d'espèces
<i>Lactobacilles</i>	Bacilles	Homo ou heterofermentaires	thermophiles ou mésophiles	G1 :23 G2 :16 G3 :22
<i>Lactococcus</i>	Coques	homofermentaires	Mésophiles	5
<i>Streptococcus</i>	Coques	homofermentaires	mésophiles ou thermophiles	19
<i>Leuconostoc</i>	Coques	heterofermentaires	Mésophiles	11
<i>Bifidobacterium</i>	forme irrégulière	acide acétique et lactique	Mésophiles	25

II.1.3 Application industrielle des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques furent et sont encore utilisées sous la forme de levains artisanaux, mais le développement de l'industrie de transformation, en particulier de l'industrie laitière, a conduit à la production de ferments industriels capable d'assurer à la fois la qualité et la constance du produit (Pfeiler et Klaenhammer, 2007).

On doit d'emblée souligner la dualité qui existe entre les ferments lactiques naturels et les ferments lactiques sélectionnés (De Roissart et Luquet, 1994; Wouters *et al.*, 2002).

II.1.3.1 Les ferments lactiques naturels :

Ces ferments lactiques naturels proviennent du lait n'ayant subi aucun traitement thermique et sont de composition complexe et variable selon le terroir d'où ils proviennent.

II.1.3.2 Les ferments lactiques sélectionnés :

Les ferments lactiques sélectionnés sont composés d'une souche pure ou d'un ensemble de souches pures. On entend par souche pure, suivant la définition classique, une population formée à partir d'une colonie isolée, développée sur boîte de Pétri sur un milieu de culture gélosé, c'est à dire une culture provenant en principe d'une seule cellule bactérienne. Normalement, les bactéries constituant ces ferments sont des espèces déterminées et leur activité globale

caractérise le ferment : l'acidification, la protéolyse, la formation d'arômes. Actuellement, les souches commercialisées ont été isolées du lait ou des produits laitiers et en particulier des levains artisanaux (**Wouters et al., 2002**). Les qualités exigées des ferments lactiques sont multiples. Ces derniers doivent être capables de transformer l'aliment en un nouveau produit possédant des propriétés définies et constantes et permettre une bonne conservation de l'aliment en le protégeant en particulier contre la détérioration par d'autres micro-organismes par le biais de l'acidification et/ou la production d'antibiotiques et de bactériocines (**Wouters et al., 2002 ; Patrignani et al., 2006**).

De nos jours, les bactéries lactiques sont, de plus en plus, recherchées pour d'autres qualités :

➤ Nutritionnelles et thérapeutiques dans des préparations appelées probiotiques (**Patrignani et al., 2006; Steijns et al., 2008**) ;

➤ De production de bactériocines : substances actives inhibant la croissance d'autres microorganismes qui sont généralement pathogènes (**Dortu et Thonart, 2009; Paul Ross et al., 2002**).

II.1.4 Les propriétés fonctionnelles et technologiques des bactéries lactiques :

Le champ d'application des bactéries lactiques est large et plusieurs de leurs propriétés sont importantes et influentes sur la qualité finale des produits alimentaires. Il permet d'assurer la qualité sensorielle des produits et de mieux maîtriser le processus de fermentation (**Casaburi et al., 2007; Muthukumarasamy et al., 2006**).

L'utilisation des bactéries lactiques ou probiotiques pour une application industrielle donnée est déterminée par leurs propriétés fonctionnelles et technologiques. Celles-ci recouvrent les propriétés suivantes : Activité acidifiante : Propriétés enzymatiques : les activités protéolytique et peptidasique. L'activité lipolytique.

II.1.4.1 Activité acidifiante :

L'activité acidifiante est 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%). Il provient de la réduction de l'acide pyruvique catalysée par la lactate déshydrogénase.

Cette activité est faible chez le genre de *Leuconostoc* lorsqu'il sont croître a des base pH (**Badis et al, 2004**).

II.1.4.2 Activité protéolytique :

La fermentation, au cours de laquelle plusieurs transformations physiques, biochimiques et microbiologiques se déroulent, est une étape cruciale dans le processus de fabrication des saucisses fermentées.

En général, les bactéries lactiques ont une faible propriété protéolytique sur les protéines myofibrillaires. Des peptidases issues de ces bactéries lactiques hydrolysent des oligopeptides et de ce fait, produisent les substances responsables de la flaveur et de la texture des produits fermentés (**Ammor et al, 2005**).

II.1.4.3 Activité lipolytique et formation de substances aromatiques :

La lipolyse a été largement étudiée dans le domaine alimentaire. Elle joue un rôle important dans la formation des substances aromatiques des produits transformés.

L'addition des lipases exogènes augmente significativement et rapidement la concentration en acide gras libre des produits fermentés, réduisant de ce fait la durée de leur maturation mais sans en améliorer systématiquement leur saveur (**Zalacain et al, 1996**).

II.1.4.4 Formation des exopolysaccharides :

La plupart des microorganismes synthétisent les polysaccharides. Certains se trouvent à l'intérieur de la cellule. D'autres sont des composants de la paroi. Un troisième groupe de polysaccharides est excrété à l'extérieur de la cellule d'où vient le terme "exopolysaccharide" (EPS) ou "polysaccharide exocellulaire". Deux types d'EPS, soit excrété dans le milieu environnant, soit lié à la surface de la cellule sous forme de capsule, peuvent être produits par certaines bactéries lactiques (**Ai et al., 2008**).

II.1.4.5 Propriété probiotique :

II.1.4.5.1 Définition d'un probiotique :

Plusieurs définitions ont été proposées pour décrire les probiotiques, mais la plus appropriée est donnée par **Havenaar et al. (1992)**: Un probiotique est une culture pure ou mixte de microorganismes vivants qui quand ils sont appliqués à l'homme ou l'animal. Affectent de façon bénéfique l'hôte en améliorant les propriétés de la microflore endogène (**Havenaar et al., 1992**).

II.1.4.5.2 Les bactéries probiotiques :

Les bactéries probiotiques sont des bactéries lactiques entériques. Elles sont présentes naturellement dans le tractus intestinal de l'animal à un moment ou un autre de sa vie. Les bifidobactéries et les lactobacilles sont les deux principales souches de bactéries probiotiques utilisées dans les produits alimentaires (**Heyman et al., 2006**).

Les souches de probiotiques (lactobacilles et bifidobactéries) introduites dans l'alimentation sous forme de produits lactés fermentés ou de suppléments alimentaires (dans les produits non-

fermentés), et qui s'implanter vraiment dans le tube digestif, peuvent interagir avec la flore intestinale, les cellules épithéliales intestinales et dans une moindre mesure les cellules immunitaires (Heyman et al., 2006).

II.1.4.5.3 Rôle d'un probiotique :

Pour être considéré comme probiotique, un micro-organisme ne doit présenter ni toxicité ni pathogénie. Les probiotiques doivent être capables de moduler la réponse immunitaire et/ou produire des substances antimicrobiennes. Ils doivent être aussi capables de survivre et de proliférer dans les milieux naturels occupés par des bactéries pathogènes (Heyman et al., 2006).

Les produits contenant des bactéries probiotiques peuvent avoir un effet prophylactique et ainsi prévenir un déséquilibre de la flore intestinale ou un effet thérapeutique et rétablir l'équilibre de la flore intestinale lorsqu'il est perturbé (De vrese et al., 2001).

Les bénéfices potentiels des probiotiques vont de la Suppression de l'activité de certains pathogènes à l'amélioration de l'utilisation du lactose (De vrese et al., 2001), de la réduction du cholestérol sanguin et du niveau de substances carcinogènes. et de l'inactivation de composés toxiques à la stimulation du système (Bottazzi, 1994 ; De vrese et al., 2001).

Ils participent à l'activation de l'immunité et à la réduction d'allergies chez les sujets à risque (Heyman et al., 2006).

II.2 Les bactéries pathogènes du lait :

Le lait et les produits laitiers, avec lesquels ils sont fabriqués, de même que ceux ayant subi un traitement d'assainissement, peuvent contenir des germes pathogènes pour l'homme. L'animal, l'homme et l'environnement peuvent être à l'origine de cette contamination.

Différentes espèces bactériennes sont capables de pénétrer dans la mamelle par le canal du trayon et sont excrétées dans le lait. Certains de ces germes, en particulier, les streptocoques et staphylocoques, provoquent des mammites avec contamination du lait (Kagembega, 1984)

II.2.1 *Staphylococcus aureus* :

D'après Bourgeois et al. (1996), l'espèce *Staphylococcus aureus* appartient à la famille des Micrococcaceae. Baird Parker a divisé en 1974 le genre *Staphylococcus* en trois espèces : *S. aureus*, *S. épidermidis*, et *S. aptopyticus*. Seules certaines souches de staphylocoques appartenant aux espèces *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus intermedius* sont capables de produire des entérotoxines (Laurent et al., 1998).

Staphylococcus aureus est une cocci à gram positif, non sporulée, immobile, coagulase et catalase positive. Croit plus rapidement en aérobie qu'en anaérobie.

C'est une bactérie mésophile, capable de se multiplier à des valeurs de pH comprises entre 4,2 et 9,3 (**Laurent et al., 1998**).

Les intoxications alimentaires à *S. aureus* surviennent 3 à 6 heures après l'ingestion de l'aliment contaminé. La symptomatologie débute dans un contexte non fébrile, en associant vomissements, une diarrhée aqueuse abondante, des douleurs abdominales et des céphalées. (**Berche, 1999**).

Ces signes évoluent favorablement en 24 à 48 heures. La muqueuse intestinale est recouverte de fausses membranes avec des ulcérations hémorragiques et nécrotiques (**Berche, 1999**).

Dans beaucoup de pays, le *Staphylococcus aureus* est considéré comme le deuxième ou le troisième germe pathogène le plus commun causant des manifestations d'intoxication alimentaire, après *Salmonella* et *Clostridium perfringens* (**Ananou et al., 2005**).

Le pouvoir pathogène de *Staphylococcus aureus* tient également à la production d'un grand nombre de substances diffusibles ou associées à la paroi (hémolysine α , β , γ et δ toxine de syndrome de choc toxique, exfoliatines, enterotoxines...) (**Guiraud et al., 2004**).

II.2.2 *Escherichia coli* :

Escherichia coli, est considérée comme un hôte naturel de la microflore digestive de l'homme et de nombreuses espèces animales. Sa présence fournissant une indication sur l'éventuelle contamination de l'aliment par des bactéries pathogènes d'origine digestive, notamment les salmonelles (**Federighi, 2005**).

E. coli est un bacille gram négatif, de la famille des Entérobacteriaceae. Elle fermente le glucose par la voie des acides mixtes (**Kaper et al., 2004**).

II.2.3 *Listeria monocytogenes*

La découverte de *Listeria monocytogenes* est liée à des cas de listérioses humaines et animales étudiés au début du XX^e siècle (**Federighi, 2005**). La listériose est une infection bactérienne d'origine alimentaire provoquée par *L. monocytogenes*, caractérisée par un des plus importants taux de mortalité : 20 à 30 % (**Martin et Jacquet, 2000**).

Sa présence a été fréquemment observée dans le lait et les produits laitiers et dans les fromages en particulier (**Berche, 1999**).

Le genre *Listeria* comporte des petits bacilles à Gram-positif, non sporulés. Mobiles à 20-25°C au moyen de 5 à 6 flagelles péritriches et peu mobiles ou immobiles à 37°C. Ce sont des bactéries aérobies anaérobies facultatives, catalase positive et oxydase négative, qui hydrolysent rapidement l'esculine (**Federighi, 2005**).

L. monocytogenes est capable de se multiplier à une température comprise entre 0°C et +10°C est qualifié de ce fait de psychrotrophe (**Rosset , 2001**). La bactérie à une température optimale de croissance entre 30 et 37 °C (**Warburton et al., 2002**). Mais cette croissance est lente à 1°C et sa température maximale de croissance se situe à 45 °C (**Doyle et al. , 1987 in Bourgeois, 1996**) .

Les manifestations cliniques de la listériose diffèrent selon l'hôte (**Moll et Moll, 1995**). Le pouvoir pathogène de la bactérie se traduit par un tropisme particulier envers certains tissus privilégiés (**Bugnicourt, 1995**).

Les symptômes de la listériose chez l'Homme sont : gastroentérite, septicémie, neuroméningée, fausse couche, la mort de nouveau né, avortement ou mort-né,... (**Martin, 2002**).

Chapitre III : Les substances antimicrobiennes

III. Les substances antimicrobiennes

Les bactéries lactiques produisent de nombreux métabolites aux propriétés antimicrobiennes tels que les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, la reutéline, le diacétyl et les bactériocines. Les bactériocines sont des peptides antimicrobiens inhibant la croissance de bactéries altérantes ou pathogènes (**Dortu et Thonart, 2009**).

Durant la fermentation du lait, différents agents antimicrobiens ayant la capacité d'inhiber le développement de bactéries pathogènes et/ou d'une flore de dégradation de l'aliment sont produits par les bactéries lactiques.

- ❖ Les acides organiques, élaborés lors de la fermentation des glucides, peuvent inhiber des levures, des moisissures et des bactéries.

- ❖ La production de peroxyde d'hydrogène car contrairement à d'autres genres bactériens, les bactéries lactiques sont dépourvues de catalase, capable de dégrader ce composé toxique.

- ❖ Les bactériocines produites par les bactéries lactiques sont des peptides antimicrobiens de faible poids moléculaire. Elles ont une activité inhibitrice dirigée contre les bactéries proches de la souche productrice. Leur spectre d'action est généralement étroit. Cependant, la plupart ont une activité contre des pathogènes alimentaires tels que *Listeria monocytogenes* (**Dortu et Thonart, 2009**).

III.1 Les acides organiques

III.1.1 Définition :

Les bactéries probiotiques produisent l'acide lactique, l'acide acétique, l'acide propionique ainsi qu'une faible quantité d'acide formique, d'acide succinique, et d'éthanol (**kostinek et al.,2005**).

En général, la production d'acides organiques permet une acidification du milieu qui peut limiter la croissance de certaines bactéries entre autres les bactéries indésirables. Des expositions prolongées dans un milieu acide peuvent entraîner la mort de plusieurs bactéries, y compris les ferments lactiques (**Champagne et al., (1992) ; kostinek et al.,2005**).

Ainsi, les acides organiques ont différentes actions telles qu'un excellent pouvoir bactéricide ou un effet bactériostatique contre les micro-organismes pathogènes se trouvant dans le tube digestif (**Jedidi, 2007**).

III.1.2 Rôle d'acide organique :

En général, c'est la forme moléculaire non dissociée des acides qui est le facteur le plus toxique pour les bactéries, d'où l'acide acétique est plus toxique que l'acide lactique (**Hermier et al., 1997**).

Les acides organiques à l'état indissociée, l'acide lactique et l'acide acétique traversent passivement la membrane cytoplasmique et, pour de fortes concentrations d'acides, le milieu intracellulaire peut s'acidifier à un point tel, que les fonctions cellulaires sont inhibées et le potentiel membranaire est annulé (**Ammor et al., 2007**).

III.2 Peroxyde d'hydrogène :

Dans les conditions d'aérobiose, chez la plupart des bactéries lactiques, les molécules de NAD réagissent avec l'oxygène pour former du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). De plus, diverses enzymes conduisent généralement à l'accumulation de peroxyde d'hydrogène qui est plus au moins toxique pour la bactérie lactique productrice. Notamment dans le cas du lait, le peroxyde d'hydrogène est le constituant d'un système inhibiteur naturel comportant aussi une peroxydase et du thiocyanate comme accepteur d'électrons.

Ce composé est un inhibiteur de la croissance microbienne car il bloque le fonctionnement de certaines enzymes-clés intervenant dans la glycolyse, comme l'hexokinase. L'action bactériostatique de ce système entraîne des irrégularités d'acidifications par les levains lactiques, qui peuvent ainsi s'auto-inhiber car ils y sont résistants. Mais, comme il peut être bactéricide pour certaines bactéries de contamination, voire pathogènes, la fédération internationale de laiterie a proposé d'utiliser les propriétés de ce système inhibiteur pour améliorer la conservation temporaire du lait cru dans les pays chauds dépourvus d'équipement de réfrigération (**Desmazeaud, 1996**).

III.3 Les bactériocines :

Klaenhammer (1988) a défini les bactériocines comme des protéines, ou complexes de protéines, avec une activité bactéricide contre des espèces proches de la souche productrice.

Toutes les bactériocines produites par des bactéries lactiques décrites jusqu'à présent ont une activité dirigée contre les bactéries Gram positif. Aucune bactériocine produite par des bactéries lactiques avec une activité contre des bactéries Gram négatives n'a été décrite, la membrane externe des bactéries Gram négatives ne permettant pas aux bactériocines d'atteindre la membrane interne, siège de leur activité (**Dortu et Thonart, 2009**).

À la suite de leurs travaux sur les colicines (bactériocines de bactéries Gram négatif) **Tagg et al., (1976)** citent les critères requis pour qu'une substance chimique soit dénommée bactériocine :

- la présence d'une partie biologiquement active de nature protéique;
- un spectre d'activité inhibitrice étroit et centré sur les espèces homologues;
- un mode d'action bactéricide;
- l'adsorption à des récepteurs spécifiques.

III.3.1 Classification des bactériocines :

On trouve des souches productrices de bactériocines chez tous les genres de bactéries lactiques. Le nombre de bactériocines de bactéries lactiques caractérisées a augmenté de façon exponentielle au cours des dix dernières années.

Tableau 04 : Classification des bactériocines de bactéries lactiques
(Luquet et Corrieu, 2005).

Classe	Sous-catégorie
Classe I : l'antibiotique	Type A : molécules linéaires Type B : molécules globulaires
Classe II : bactériocines non-modifiées thermostables	Classe : anti-listeria Classe : bactériocines à deux composants Classe : autres bactériocines
Classe III : bactériocines de grande taille, sensibles à la chaleur.	

III.3.1.1 La classe I lantibiotique

Il s'agit de peptides de taille réduite (<5 kDa), contenant des acides aminés inhabituels obtenus par modification post-traductionnelle dont le plus caractéristique est la lanthionine ; c'est pour quoi les bactériocines appartenant à la classe I sont appelées lantibiotiques pour « *lanthionine containing antibiotics* ».

III.3.1.2 Classe II : Peptides non modifiés

Cette classe regroupe les petites bactériocines (< 10 KDa) thermostables et ne subissant pas de modification post-traductionnelle ; cependant elles sont généralement synthétisées sous forme d'un prépeptide qui sera mûri lors de son excrétion dans le milieu extracellulaire.

III.3.1.3 Classe III : Protéines

Les bactériocines de classe III sont caractérisées par leur grande taille, Elle contient les protéines de taille supérieure à 30kDa et sensibles à la chaleur. La structure et le mode d'action

de ces bactériocines diffèrent complètement des autres bactériocines produites par les bactéries lactiques.

Tableau 05: Bactériocines de classe III produites par des bactéries lactiques
(Luquet et Corrieu, 2005).

Bactériocines	Producteurs
Hélvéticine J	<i>Lactobacillus helveticus</i> 481
Milléricine B	<i>Streptococcus milleri</i> NMSCC 061
Zoocine A	<i>Streptococcus zooepidermicus</i> 4881

III.3.2 Mécanisme d'action :

Le siège d'activité des bactériocines est la membrane cellulaire, raison pour laquelle les bactériocines n'ont pas d'activité contre les bactéries Gram-négatif. Cependant, les modes d'action des bactériocines sur la membrane sont variés (Dortu et Thonart, 2009).

III.3.2.1 Les bactériocines de classe lantibiotique :

Les lantibiotiques interagissent avec la membrane cellulaire par des interactions électrostatiques ou par liaison à des récepteurs spécifiques tels que le lipide II (undecaprenyl-pyrophosphoryl-MurNAc penta peptides-GlcNAc), un précurseur de peptidoglycanes. Suite à cette liaison, les lantibiotiques peuvent former des pores larges et non spécifiques dans la membrane cytoplasmique, ce qui va causer l'efflux rapide des petits composés cytoplasmiques tels que les ions, les acides aminés, l'ATP,...etc. Cette augmentation de la perméabilité membranaire va conduire à la dissipation des deux composantes de la force proton motrice, à la cessation rapide des activités cellulaires et à la mort de la cellule (Luquet et Corrieu, 2005).

III.3.2.2 Les bactériocines de classe II :

Le mécanisme d'action supposé des bactériocines de classe IIa est l'interaction de la bactériocine avec la membrane ou un récepteur, la mannose perméase, pour ensuite former un pore dans la membrane de la cellule ce qui induit la perméabilisation de la membrane et la mort de la cellule (Hécharde *et al.*, 2001; Gravesen *et al.*, 2002).

III.3.2.3 Les bactériocines de Class III :

Le mode d'action de ces bactériocines diffère complètement des bactériocines des autres classes. En effet, l'entérolysine A, la zoocine A et la milléricine B agissent par l'hydrolyse des liens peptidiques des peptidoglycanes des cellules sensibles. La zoocine A a un spectre d'action étroit alors que l'entérolysine A et la milléricine B ont un spectre d'action large.

L'helvéticine J a un mode d'action bactéricide (**Luquet et Corrieu, 2005 ; Nilsen et *al.*, 2003**).

Matériels et Méthodes

I. Analyses physicochimiques du fromage

I.1. Provenances des échantillons

Le 12 avril 2013 deux échantillons d'un produit laitier traditionnel (Jben) fabriqués par le lait de vache ont été collectés à partir d'une ferme dans la région de Méchria (Wilaya de Naama), la figure 9 (Annexe I) résume le procédé de fabrication du Jben. L'échantillon a été récupéré dans des sachets de prélèvement stériles, environ 300 g par sachet. Immédiatement l'échantillon a été transporté dans une glacière au laboratoire pour être analysé.



Photo 1. Produit laitiers traditionnel (Jben).

I.2. Matière sèche :

❖ Mode opératoire

Une capsule contenant 20 gramme de sable marin et une baguette en verre est placée pendant une heure dans l'étuve à 103°C puis refroidie dans le dessiccateur 5 gramme de prise d'essai sont alors ajouté dans la capsule et mélangés intimement au sable à l'aide de la baguette en verre; le tout est étuvé pendant 24 heures à 102°C(peut aller jusqu'à 48H).

La pesé est effectué après refroidissement dans un dessiccateur et une fois l'échantillon atteint un poids constant l'extrait sec est calculé.

Expression des résultats

La matière sèche exprimée par rapport au poids humide est par formule :

$$MS\% = \frac{M - m}{E} .100$$

- **M** : masse en gramme de la capsule sable et baguette et prise d'essai après dessiccation.
- **m**: masse de capsule sable et baguette en verre après dessiccation.
- **E** : masse de prise d'essai (AFNOR NF V 04-282 in Agioux et al., 2003).

I.3. Mesure de pH

10g de l'échantillon de produits laitiers (Jben) a été homogénéisé avec 90 ml d'eau distillée. Le pH de l'échantillon a été déterminé après une heure en utilisant un pH-mètre numérique (**WTW INOLOB pH720**) où l'électrode a été insérée directement dans l'échantillon, trois répétitions ont été réalisées (**Owusu-Kwarteng et al, 2012**).

I.4. Acidité

Déterminée selon la méthode officielle de l'AOAC (Association of Official Analytical Chemists) (**AOAC.947.05**).

❖ Principe

Titration avec une solution de NaOH 0.1N (annexe II) au point de virage de la phénolphthaléine à PH 8.6

❖ Mode opératoire

De l'eau distillé à une température de 40°C est ajouté à 10g du fromage finement broyé jusqu'à un volume de 105 ml ; une portion de 25 ml de la solution est considéré comme 5 gramme du fromage est titré par le NaOH en présence de phénolphthaléine comme indicateur coloré.

❖ Expression des résultats

Exprimée selon la formule suivant :

$$A (^{\circ} D) = \frac{ml \cdot N}{V}$$

- **ml** volume en ml de NaOH 0.1 titré.
- **N** normalité de 0.1 N NaOH
- **V** volume du lait en ml

I.5. Cendre

Déterminé avec la même méthode que celle des produits laitiers liquides (**NF V 04-208 in COFRAC, 1990**).

❖ **Principe** : incinération à 550°C pendant 16 heures (**NF V04-208 in COFRAC, 1999**).

❖ Mode opératoire

- Peser 1 à 5 g de l'échantillon et déposer dans le creuset
- Faire passer l'échantillon dans le four à moufle à 525°C pendant 16 heures.
- Refroidir l'échantillon dans un dessiccateur et pesé.

❖ **Expression des résultats :**

$$Cendre \% = \frac{a - b}{c - b} .100$$

- **a** : poids de l'échantillon incinéré + poids du creuset.
- **b** : poids du creuset.
- **c** : poids de l'échantillon + poids du creuset.

I.6. Humidité du produit

Obtention des teneurs en eau :

A l'aide des masses de produit mesuré on peut calculer les teneurs en eau en masse sèche par la formule suivante :

$$x = \frac{m - MS}{MS} .100$$

- **X** : teneur en eau en base sèche (Kg d'eau par kg de matière sèche)
- **m**: masse du produit en gramme.
- **MS** : masse de matière sèche (MS= masse totale de départ – la masse d'eau de départ (calculées à partir de la teneur en eau en base humide). (**Quseam et al, 2009**).

I.7. Analyses des propriétés de réhydratation du fromage

La méthode choisie pour tester la réhydratation doit mesurer l'intérêt recherché par le consommateur pour Jben, la principale utilisation est la reconstitution lors de la préparation des plats cuisiniers traditionnels; le produit doit être soluble et doit maintenir son solubilité dans le temps.

Deux tests ont été développés pour étudier l'effet du traitement thermique sur la reconstitution d'un fromage similaire (Jameed) après le séchage (**Quseam et al, 2009**).

I.7.1 La diffusibilité

Un échantillon de fromage est immergé dans un volume d'eau (7 fois de la masse du fromage) et trempée pendant 24 heures (**Quasem, 1996 in Qusaem et al. 2009**) la masse de l'eau absorbée est mesurée; l'eau absorbée est exprimé par la formule suivante

$$eau\ absorbé\ \% = \frac{\text{volume de l'eau} - \text{eau non absorbée (g)}}{\text{Masse du prise d'essai}} .100$$

I.7.2 La synérèse (séparation du sérum)

Le fromage trempé est broyé avec l'eau dans lequel il a été immergé par un mixeur électronique et transféré dans une éprouvette de 25 ml la zone claire est mesurée après 1 heure et 24 heures, la synérèse est calculée par la formule suivante (Quasem et al., 2009)

$$\text{synérèse \%} = \frac{X}{Y} \cdot 100$$

- **X** : hauteur de zone claire
- **Y** : hauteur totale

I.8. Matière grasse

La matière grasse dans le Jben est déterminée par la méthode de Soxhlet (Mennane et al., 2007a). Elle est basée sur le même principe de la méthode Rose Gottlieb (FIL 9C ; AOAC905-02) qui consiste à une extraction de la matière grasse par un solvant après sa libération par traitement alcalin (Amiot et al., 2002).

❖ Principe

Il s'agit de déplacer les lipides et la matière grasse de la poudre de l'échantillon par extraction répétée avec un solvant approprié.

❖ Mode opératoire

- Peser 2g de poudre introduire dans la cartouche d'extraction ;
- Ajouter 1g de l'hydroxyde de sodium ;
- Placer dans un extracteur pendant 1 heure de siphonage répété jusqu'à épuisement de la matière grasse par éther de pétrole
- Le miscella est recueilli dans un ballon séché et pesé au préalable ;
- Sécher le résidu d'évaporation dans l'étuve à une température de 75°C jusqu'à poids constant ;
- Refroidir dans le dessiccateur.

❖ Expression des résultats

La teneur en matière grasse est exprimée par la formule suivante :

$$MG = \frac{M_i - M}{p} \cdot 100$$

Soient :

- **MG** : Matière grasse.
- **M_i** : poids en (g) du ballon avec la matière grasse.

- **M** : poids en (g) du ballon sec
- **P** : poids en (g) de la prise d'essai.

I.9. Indice du fromage (Jben)

La caractérisation de Jben par la détermination de ses indices d'acide **IA** de saponification **IS** et d'ester **IE**.

I.9.1 Indices d'acide (IA)

C'est le nombre de milligramme d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour neutraliser les acides libres contenus dans un gramme de corps gras.

❖ **Mode opératoire:**

- Peser 1g de corps gras et on l'introduire dans un Erlenmeyer en verre ;
- Ajouter 5ml d'éthanol à 95% et 5 gouttes de phénolphéthaline (PP) à 0.2%.
- Neutraliser en ajoutant une solution éthanolique de KOH (0.1 mol/l) jusqu' à l'obtention d'une couleur rose. **AFNOR, (1986)**

- Le calcul de l'**IA** est donne par la formule suivant:

$$\mathbf{IA} \text{ (mg KOH/g)} = 5.61 \times V/M$$

- **V** : volume en ml de la solution éthonolique de KOH (0.1mole/l) utilisée par le titrage
- **M** : masse en g de corps gras.

I.9.2 Indices de saponification (IS)

C'est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour neutraliser les acides libres et pour saponifier les acides gras combinés (les esters) présents dans un gramme de corps gras.

- Peser 1g de corps gras dans un ballon et ajouter 25ml de potasse alcoolique de concentration 0.5mol/l.
- Porter à l'ébullition dans un bain marie pendant 45 à 60 minutes (photo 2).



Photo 2. Ballon d'essai (l'échantillon + potasse alcoolique 0.5N) dans le bain marie

- Ajouter 2 à 3 gouttes de phénolphtaléine à 0.2%.
- Doser l'excès de potasse par l'acide chlorhydrique de concentration 0.5 mol/l (annexe II) en agitant constamment jusqu'à virage à l'incolore de la phénolphtaléine.
- Effectuer dans les mêmes conditions un essai à blanc (**photo 3**).



[A]



[B]

Photo 3. [A] Essai a blanc, [B] Ballon d'essai (l'échantillon + potasse alcoolique 0.5N)

- Le calcul de l'IA est donne par la formule suivante:

$$IS \text{ (mg KOH/g)} = ((V0-V1)*C \text{ HCL}*MKOH)/m$$

- **V0** : volume versé au témoin en ml
- **V1** : volume de l'essai en ml
- **m** : masse d'huile exactement pesée en g
- **C (HCL)** : concentration de la solution d'acide chlorhydrique en mol/l.
- **M (KOH)** : masse molaire du KOH en g/mol. **AFNOR, (1982)**

I.9.3 Indice d'ester (IE)

c'est le nombre de milligramme de KOH nécessaire pour neutraliser les acides libres par l'hydrolyse des esters contenus dans un gramme de corps gras.

$$\text{IE (mg/g)} = \text{IS} - \text{IA. (AFNOR, 1982).}$$

II. Isolement et identification des bactéries lactiques

II.1. Dénombrement de la flore mésophile totale

- 5 g de l'échantillon de produits laitiers a été homogénéisés vigoureusement avec 45 ml d'eau physiologique (annexe III) d'où la dilution 10^{-1} .

- On transfère à l'aide d'une pipette stérile dans une boîte de Pétri, une prise d'essai de 1ml de l'échantillon à analyser ou ses dilutions décimales (de 10^{-1} à 10^{-7}).

- On coule la gélose P.C.A maintenue en surfusion à 45°C dans des boîtes de Pétri.

Pour obtenir une répartition homogène des colonies, on procède par remuage des boîtes sur une surface plane en veillant à inverser régulièrement le sens de rotation.

- On laisse la gélose se solidifier .

- Incuber à 30°C pendant 24 à 48 heures.

➤ Lecture

On calcule le nombre des colonies et on exprime les résultats sous forme du nombre de micro-organismes totaux à 30°C par gramme en tenant compte du facteur de dilution éventuel, on prend en considération les boîtes contenant 30 à 300 colonies (**Cheriguene et al., 2007**).

II.2. Isolement des bactéries lactiques

Dix grammes de l'échantillon (Jben) a été homogénéisés avec 90 ml de l'eau physiologique péptonnée stérile (annexe III) (0,85% de NaCl, P/V, Merck, Germany) additionnée de peptone (0,1%, P/V, Merck, Germany). A partir de cette dilution 10^{-1} , des dilutions décimales (de 10^{-2} à 10^{-7}) ont été préparées et pour chaque dilution un volume de 0,1 ml a été étalé en surface sur les milieux d'isolement (**Kacem et Karam , 2006; Cheriguene et al., 2007**).

L'isolement des bactéries lactiques est réalisé sur le milieu MRS (MRS agar, Fluka Biochemika, 69964) solide à pH 6.2 et le milieu M17 (Fluka Biochemika, 63016). Les cultures sont incubées pendant 72 heures à 30 et 45°C dans des boîtes de Pétri à l'obscurité. Après isolement des colonies d'aspects morphologiques différents (taille, couleur, surface, profondeur...) sont repiquées sur milieu MRS et M17, incubées à 30 ou 45°C afin de s'assurer de la pureté des cultures (**Kacem et Karam, 2006, Cheriguene et al., 2007**).

II.3. Conservation des souches

Elle a été réalisée par ensemencement des souches isolées sur gélose MRS inclinée en tubes à essais, les cultures pures sont conservées à + 4°C à l'obscurité (**Badis et al., 2003**).

II.4. Identification des bactéries lactiques

L'identification a été établie en se basant sur des caractères morphologiques et divers caractères biochimiques : production d'enzymes, température de croissance, production de gaz carbonique, fermentation de divers sucre.

II.4.1. Tests morphologiques

II.4.1.a- Coloration de Gram

Un frottis fixé à la chaleur est coloré pendant une minute au *violet de cristal*; il est ensuite rincé rapidement à l'eau courante, traité pendant une minute par une solution de *Lugol*, et de nouveau rincé rapidement. On soumet alors le frottis coloré à une étape de décoloration en le traitant avec l'éthanol 95%. Il s'agit de l'étape critique: la lame est maintenue inclinée et on fait couler le solvant sur le frottis pendant 2 à 3 secondes seulement jusqu'à ce que le colorant cesse de s'échapper librement du frottis. Celui-ci est alors immédiatement rincé à l'eau courante. À ce stade les cellules gram- seront incolores, les cellules gram+ violettes. On soumet ensuite le frottis à une contre coloration de 30 secondes à la *fushine* pour colorer les cellules gram- présentes. Après un bref rinçage, on sèche le frottis au buvard et on l'examine à l'objectif à immersion (grossissement X 1000) (**Singleton, 1999**).

II .4.1.b- Etat frais

Un tube contenant le milieu MRS liquide (10ml) est inoculé par une colonie isolée sur gélose MRS, on incube à 30°C±1°C pendant 24 heures, jusqu'à l'apparition d'un trouble microbien. Pour la mobilité et la forme une lame additionnée d'une goutte de la culture est observée au microscope (**Attallah et belyagoubi, 2003**).

II.4.2. Tests biochimiques

II.4.2.1. Test catalase

Pendant leur respiration aérobie certaines bactéries produisent du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) celui-ci est très toxique et certaines bactéries sont capable de le dégrader grâce aux enzymes qu'elles synthétisent et notamment la catalase. Cette enzyme est capable de décomposer l'eau oxygénée selon la réaction :



Ce test a pour but de différencier les bactéries lactiques (catalase-) des entérobactéries (catalase+). Une colonie est mise en suspension avec une ou deux gouttes de solution de peroxyde d'hydrogène (10 volumes) sur une lame. La réaction positive se traduit par un dégagement immédiat de bulles de gaz (O₂) (**Marchal et al., 1991**).

II.4.2.2. Esculine

L'hydrolyse de l'esculine (ou aesculine) qui rompt la liaison glucosidique et libère du glucose et de l'esculitine qui donne une coloration noire en présence de citrate de fer ammoniacal.

- ✓ Répartir le milieu à l'esculine en tubes à essai à raison de 10 ml par tube.
- ✓ Après ensemencement par piqure centrale, incuber à 30°C±1°C pendant 48 à 72h.
- ✓ Un résultat positif se traduit par un noircissement du milieu (**Marchal et al., 1991**).

II.4.2.3. Type fermentaire

Dans des tubes à essai on a versé un milieu MRS et entreposé des cloches de Durham pour mettre en évidence la production de gaz. Ensuite on a ensemencé les souches.

Les souches homofermentaires vont produire 90% d'acide lactique et seulement 10% de CO₂, par contre les souches hétérofermentaires vont produire l'acide lactique et le CO₂ à proportions égales (**Carr et al., 2002**).

II.4.2.4. Effet de NaCl , pH et du température

Quatre milieux de MRS liquides ont été utilisés contenant différentes concentrations de NaCl : 2% de NaCl (2 g de NaCl par 100 ml de milieu), 4%, 6,5% et 10%, avec un pH de 6,5. Une autre série d'essais a été réalisée sur le milieu MRS avec un pH de 4,5, 6,5 et 8 et une autre série a été réalisée sur le milieu MRS avec incubation à 5, 37 et 44,5°C (**Badis et al., 2005**).

II.4.2.5. Thermorésistance

Des tubes contenant 10 ml de MRS liquide sont inoculés par les souches isolées, ensuite les tubes sont déposés dans un bain marie à 63,5°C pendant 30 minutes, après refroidissement brusque, elles sont incubées à 30°C±1°C pendant 48 à 72h. Un résultat positif se traduit par un trouble (**Badis et al., 2005**).

II.4.2.6. Urée-Indole

Une suspension dense de bactéries est introduite dans 0,5 ml de milieu Urée-Indole, l'incubation se fait à 30°C±1°C pendant 24 à 48 h.

- Un virage de milieu au rouge violacé ou au rouge rose indique une réaction d'uréase positive.

- Deux gouttes de réactif de Kovacs sont additionnées. L'apparition d'un anneau rouge indique une réaction d'indole positif (**Marchal et al., 1991**).

II.4.2.7. VP/RM

Deux tubes contenant chacun 0,5 ml de milieu **Clark** et **Lubs** sont ensemencés à l'aide d'une anse, après incubation à $30^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 18 à 48 h, on ajoute deux gouttes de réactif VP dans l'un des deux tubes et deux gouttes de réactif RM dans l'autre.

- Une teinte rouge cerise indique une réaction VP positive.
- Une teinte rouge indique une réaction RM positive (**Marchal et al., 1991**).

II.4.2.8. Milieu Mannitol-mobilité

Le mannitol est un produit de réduction du D-mannose. Il permet de rechercher simultanément la fermentation du mannitol et la mobilité. On a ensemencé les souches étudiées dans le milieu par piqûre centrale, et incubé à $30^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 18 à 24h. Le virage au jaune du milieu indique la fermentation du mannitol, une diffusion dans la gélose indique la mobilité des bactéries (**Marchal et al., 1991**).

II.4.2.9. TSI (Gélose Glucose-Lactose-Saccharose-H₂S)

A l'aide d'une anse contenant des colonies prélevées, on ensemence la pente puis le culot d'un tube par piqûre centrale. L'incubation se fait à $30^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 48 à 72h.

- Une coloration jaune de la pente indique un lactose positif.
- Une coloration jaune du Culot montre un glucose positif.
- Une coloration jaune de la zone intermédiaire indique un saccharose positif.

Ce test permet également la production de H₂S (noircissement de la zone joignant la pente et le culot) et de Gaz (bulles dans la gélose) (**Marchal et al., 1991**).

II.4.2.10. Citrate

Ce milieu ne contient qu'une seule source de carbone: le citrate. Seules les bactéries possédant une citrate-perméase sont capables de se développer sur ce milieu. La pente du milieu est ensemencée selon une strie longitudinale au moyen d'une anse contenant une colonie et incubé à $30^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 5 jours.

- Citrate-positive : culture avec alcalinisation du milieu (virage de l'indicateur au bleu).
- Citrate-négative : pas de culture (coloration verte de milieu inchangée) (**Marchal et al., 1991**).

II.5. API 50 CH (bio Mérieux)

La galerie API 50 CH est constituée de 50 microtubes (tableau 13, annexe IV) permettant l'étude de la fermentation de substrat, appartenant à la famille des hydrates de carbone et dérivés (hétérosides, polyalcools, acides uroniques).

Les tests de fermentation sont inoculés avec API 50 CHL Medium (annexe IV) qui réhydrate les substrats.

Durant la période d'incubation, la fermentation se traduit par un changement de couleur dans le tube, dû à une production d'acide en anaérobiose révélée par l'indicateur de pH du milieu choisi. Le premier tube, sans principe actif, sert de témoin négatif (**bioMérieux**).

III. Interactions microbiennes

Dans cette partie on réalise des interactions entre les souches isolées de produits laitier traditionnel et six bactéries pathogènes de références. Les microorganismes utilisés dans notre étude sont mentionnés dans le tableau suivant :

Tableau 06 : Souches utilisées dans le test antimicrobien.

Microorganismes	Gram	Code	Origine
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	ATCC 6538	MNHN
<i>Micrococcus luteus</i>		ATCC 9341	
<i>Listeria monocytogenes</i>		ATCC 15313	La PRONA
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Négatif	ATCC 27853	MNHN
<i>Escherichia coli</i>		ATCC 8739	
<i>Klebsiella pneumonia</i>		ATCC 13047	La PRONA

MNHN : Muséum National d'Histoire Naturel, Paris.

La PRONA : Laboratoire des **Produits Naturels**.

III.1. Préparation des précultures des bactéries tests (pathogènes)

Dans un premier temps ces bactéries sont cultivées à 37°C±1 sur 10 ml de bouillon Cœur-Cerveille (BHIB), pendant 18 à 24h. La culture d'une nuit obtenue servirait d'inoculum.

III.2. Interactions Bactéries lactiques / Bactéries pathogènes

Méthode décrite par **Fleming et al., 1985** modifiée: une boîte contenant le milieu MRS est ensemencée par touche d'une culture de bactéries lactiques, l'incubation se fait à $30^{\circ}\text{C}\pm 1$ jusqu'à l'obtention de colonies confluentes (environ 48h).

Ensuite, on inocule un tube contenant 10 ml de milieu MRS semi-solide (7g d'Agar/l) avec 0,5 ml de la préculture des bactéries pathogènes. Après agitation de tube on coule la deuxième couche de gélose sur les boîtes de Pétri. L'activité antibactérienne est déterminée par mesure des diamètres des zones d'inhibitions après incubation à $37^{\circ}\text{C}\pm 1$ pendant 24h.

Résultats et Interprétations

I. Analyses physico-chimiques :

Tableau 07: Résultats des analyses physico-chimiques de Jben.

Paramètre	Valeur
pH	5,43
Matière sèche (g/ml)	55,8
Acidité (°D)	45
Cendre (g)	0,28
Humidité du produit (g/ml)	0,79
Diffusibilité (%)	50
Synérèse (%)	78,67
Matière grasse (g/l)	16,83
Indices d'acide (mg/g)	20,19
Indices de saponification (mg/g)	114
Indice d'ester (mg/g)	93,81

En Algérie, beaucoup des produits laitiers sont préparés par des méthodes traditionnelles, utilisant le lait de vache, le lait de chèvre ou également le lait de brebis cru.

Les résultats de mesure du pH montrent que le Jben possède une valeur de 5,43 qui est inférieure par rapport à celle reportée par **Belyagoubi et Abdelouahid (2013)**. Ces auteurs ont révélé pour le Jben de la région de Mecheria, une valeur de 6,38.

Selon les travaux de **Kacem et Karam (2006)**, les analyses de pH de produit laitier "Shmen" de lait de chamelle de quatre wilayas d'Algérie, ont présenté des valeurs qui varient entre 3,10 et 4,87.

Certaines normes françaises imposent généralement un pH inférieur à 4,5 ou 4,6 pour le lait fermenté (**Luquet et Corrieu, 1998**).

Les différences des valeurs de pH de Jben par rapport aux autres produits peuvent être dues à la méthode de préparation, au type de lait, à la date de préparation ou peuvent être liées au type d'alimentation donnée aux animaux (**Ouadghiri, 2009**).

La teneur en matière grasse est de 16,83 %, cette valeur est faible par rapport à celles mentionnées par les travaux de **Lhsaoui (2003)**, où la teneur est de 31.84 %. Selon les travaux du même auteur, la teneur d'eau du fromage molle Klila varie entre 66% et 60%.

Auldrist et al., (1998) ont reporté que la composition physico-chimique du lait cru dépend essentiellement du stade de lactation, la période de l'année et le régime alimentaire des vaches.

En comparaison avec les travaux de **Lhsaoui (2003)**, nous remarquons une diminution dans la diffusibilité (50%) et une différenciation minimale de synérèse mesurée (78,67%). L'augmentation de ces deux paramètres donne une meilleure propriété de réhydratation à ce produit (**Amiot et al., 2002**).

II. Dénombrement de la flore mésophile totale

Le dénombrement de la flore mésophile totale à 30°C sur milieu P.C.A montre que le Jben possède une charge microbienne de 1.88×10^6 UFC/g. Cette valeur est plus élevée par rapport aux résultats mentionnés par **Mennane et al., (2007)**, où le Jben a une charge de 7.5×10^4 UFC/g. Par contre elle est moins élevée par rapport aux travaux de **Belyagoubi et Abdelouahid (2013)** où la charge est de 3.47×10^7 UFC/g.



Photo 4. Dénombrement de la flore mésophile totale sur le milieu P.C.A à 30°C.

III. Isolement des bactéries lactiques

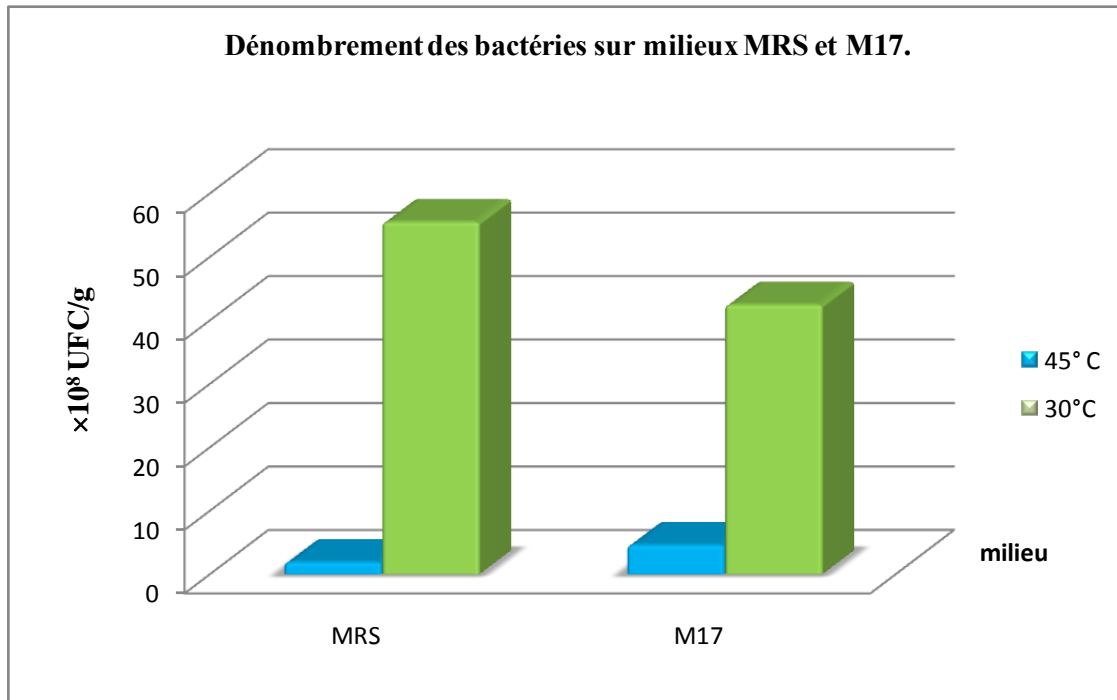


Figure 2: Dénombrement des bactéries lactiques sur milieux MRS et M17.

Pour le dénombrement de la flore lactique, nous avons utilisé deux milieux : MRS et M17.



Photo 5 : Dénombrement de la flore lactique sur le milieu MRS à 30°C.

À la température d'incubation de 30°C, le Jben possède les charges microbiennes suivantes : $55,5 \cdot 10^8$ UFC/g et $42,45 \cdot 10^8$ UFC/g sur les milieux MRS et M17, respectivement.

À 45°C, le Jben possède une grande charge en bactéries lactiques sur le milieu M17 ($4,6 \times 10^8$ UFC/g) que le milieu MRS ($1,9 \times 10^8$ UFC/g).

Ces observations sont en accord avec celles déjà décrites par **Ouadghiri (2009)** sur dix-sept échantillons du fromage blanc traditionnel (Jben) du Maroc, où les bactéries lactiques sont présentes dans tous les échantillons analysés à des dénombrements de 10^8 à 10^9 UFC/g.

Par contre, ces valeurs sont plus élevées par rapport aux résultats reportés par **Mennane et al., (2007)**, où la Klila et le Jben possèdent des charges de $4 \cdot 10^6$ et $7,5 \cdot 10^4$ UFC/g, respectivement. De même, les études de **Belyagoubi et Abdelouahid (2013)** sur les bactéries lactiques isolées du Jben ont révélé des valeurs moins élevées.

Les résultats obtenus indiquent que, la flore lactique est très élevée dans le Jben.

IV. Identification des genres

25 souches ont été isolées Gram positives et catalase négatives.

IV.1. Examen macroscopique

Le résultat de l'examen macroscopique est illustré Dans le tableau 8.

Tableau 08: Aspects macroscopiques et milieux d'isolement des souches.

Code de la souche	Milieu	Observation macroscopique
S ₁	MRS 10 ⁻⁵ 30°C	Blanche petite
S ₂	M17 10 ⁻³ 30°C	Blanche très petite
S ₃	MRS 10 ⁻⁷ 30°C	Blanche très petite
S ₄	M17 10 ⁻⁵ 30°C	Blanche très petite
S ₅	M17 10 ⁻⁵ 30°C	Blanche petite
S ₆	M17 10 ⁻⁷ 30°C	Blanche très petite
S ₇	M17 10 ⁻⁷ 30°C	Blanche petite
S ₈	MRS 10 ⁻⁶ 30°C	Blanche petite
S ₉	MRS 10 ⁻⁶ 30°C	Blanche petite
S ₁₀	MRS 10 ⁻⁶ 45°C	Blanche très petite
S ₁₁	MRS 10 ⁻⁶ 45°C	Blanche peu petite
S ₁₂	M17 10 ⁻⁶ 30°C	Blanche petite
S ₁₃	MRS 10 ⁻⁴ 30°C	Marron claire et petite
S ₁₄	M17 10 ⁻⁴ 30°C	Marron et très petite
S ₁₅	M17 10 ⁻³ 30°C	Blanche très petite
S ₁₆	M17 10 ⁻⁶ 30°C	Blanche petite
S ₁₇	M17 10 ⁻⁶ 30°C	Blanche très petite
S ₁₈	M17 10 ⁻⁶ 30°C	Blanche peu petite
S ₁₉	M17 10 ⁻⁶ 30°C	Blanche petite
S ₂₀	M17 10 ⁻⁵ 30°C	Blanche peu petite
S ₂₁	M17 10 ⁻⁵ 30°C	Blanche petite
S ₂₂	M17 10 ⁻⁵ 30°C	Marron claire et très petite
S ₂₃	M17 10 ⁻⁵ 30°C	Blanche très petite
S ₂₄	MRS 10 ⁻³ 30°C	Blanche très petite
S ₂₅	M17 10 ⁻⁴ 30°C	Blanche très petite
S ₂₆	M17 10 ⁻⁴ 30°C	Blanche peu petite
S ₂₇	M17 10 ⁻⁴ 30°C	Blanche petite
S ₂₈	M17 10 ⁻⁷ 45°C	Blanche petite
S ₂₉	M17 10 ⁻⁶ 30°C	Blanche petite
S ₃₀	MRS 10 ⁻⁴ 30°C	Blanche très petite

Les cultures obtenues sur les boîtes de Pétri sont observées à l'œil nu pour caractériser la forme, la taille, l'aspect ainsi que la couleur des colonies (**Badis et al., 2006**).

En effet les colonies observées sont les suivantes :

- Colonies blanches, rondes ou lenticulaires.
- Colonies transparentes, rondes très petites.
- Petites colonies blanches, rondes ou lenticulaires.

Les 25 souches isolées ont été catalase négative.

IV.2. Examen microscopique

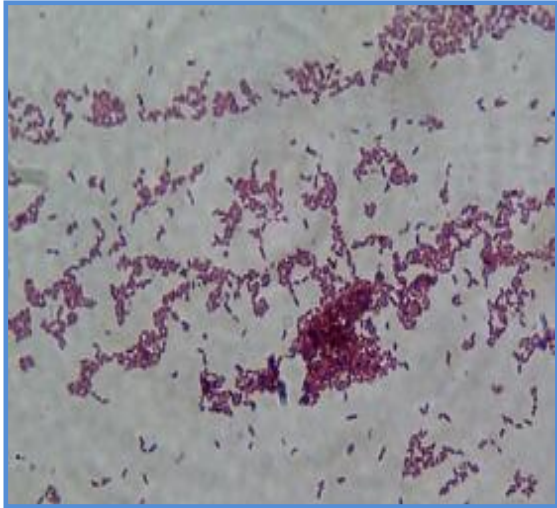
Le résultat de cet examen est résumé dans le tableau 9.

Tableau 09 : Résultats des tests catalase, coloration de Gram et aspects microscopiques des souches isolées.

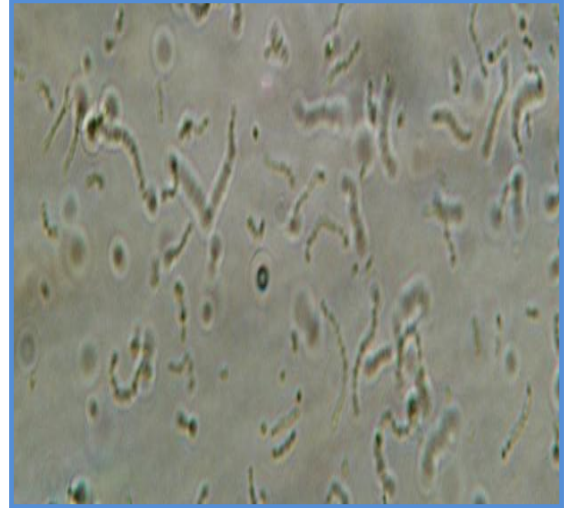
Souche	Coloration de Gram	Etat frais	
		Forme	Regroupement
S1	+	Coccus	Chaînette
S2	+	Coccus	Chaînette
S3	+	Coccus	Chaînette / diplocoques
S4	+	Coccus	Chaînette
S ₅	+	Coccus	Chaînette
S6	+	Coccus	Chaînette
S7	+	Coccus	Chaînette / isolées
S8	+	Coccus	Chaînette
S9	+	Coccobacilles	Coccobacilles
S10	+	Coccobacilles	Coccobacilles
S11	+	Coccobacilles	Coccobacilles
S12	+	Coccus	Chaînette / diplocoques
S13	+	Coccus	Chaînette
S14	+	Coccus	Chaînette
S15	+	Coccus	Chaînette / isolées
S16	+	Coccus	Chaînette / diplocoques
S17	+	Coccus	Chaînette / diplocoques
S18	+	Coccus	Chaînette / isolées
S19	+	Coccus	Chaînette / isolées
S20	+	Coccus	Chaînette / diplocoques
S21	+	Coccus	Chaînette / isolées
S22	+	Coccus	Chaînette
S23	+	Coccus	Chaînette / isolées
S24	+	Coccus	Chaînette
S25	+	Coccus	Chaînette

+ : positif ; - : négatif.

Les tests macroscopiques de la flore lactique nous ont permis d'isoler 30 souches, dont 25 présentent des caractères similaires aux bactéries lactiques (Gram+, catalase-).



[A]



[B]

Photo 6. Observations microscopiques des bactéries lactiques avec un grossissement (G : 10x100) ([A] : coloration de Gram, [B] : état frais).

Après la coloration de Gram, nous avons passé à l'observation microscopique aux grossissements (G : 10x10), (G : 10x 40) et (G : 10x 100) avec l'huile à immersion, où nous avons pu observer que les bactéries étaient Gram positif apparaissant sous différentes formes avec différents modes d'associations.

L'observation microscopique a montré que la plupart des souches étudiées sont des cocci isolés ou en chaînettes.

Les 25 souches à Gram positif sont conservées pour l'identification et les tests d'antagonisme (Tableau 9).

IV.3. Tests de : Température, pH, NaCl et Thermorésistance.

Le résultat de ces tests est résumé dans le tableau 10.

Tableau 10 : Tests de température, pH, NaCl et Thermorésistance.

Souche	Température [°C]			pH			NaCl (%)				Thermorésistance (63,5°C/30min)
	4	37	44,5	4,5	6,5	8	2	4	6,5	10	
S ₁	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+
S ₂	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+
S ₃	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+
S ₄	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+
S ₅	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
S ₆	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+
S ₇	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+
S ₈	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+
S ₉	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+
S ₁₀	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-
S ₁₁	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-
S ₁₂	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+
S ₁₃	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-
S ₁₄	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+
S ₁₅	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+
S ₁₆	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+
S ₁₇	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+
S ₁₈	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+
S ₁₉	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+
S ₂₀	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+
S ₂₁	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+
S ₂₂	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+
S ₂₃	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
S ₂₄	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+
S ₂₅	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-	+

+ : croissance ; - : pas de croissance.

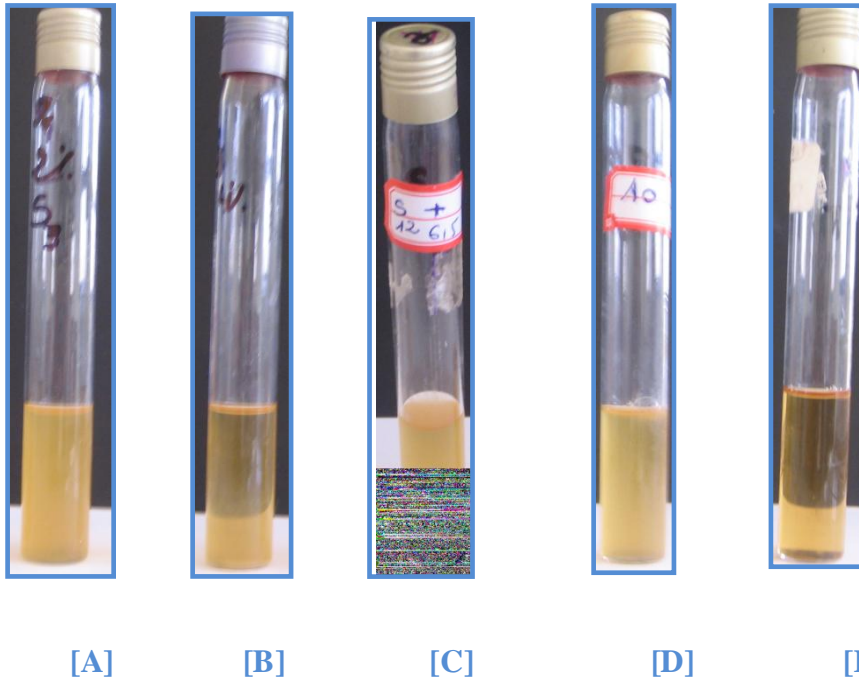
Les expériences effectuées ont montré que :

- La plus part des souches isolées est capable de se croître sur le bouillon MRS avec une concentration de NaCl de 2 et 4%, seulement quatre souches de bactéries lactiques parmi les 25 souches sont incapables de se multiplier; la S₁₈ à 2% et les S₂₂, S₂₃ et S₂₅ à 4%. Pour une concentration de 6,5% de NaCl, seulement dix souches de bactéries lactiques sont incapables de se multiplier. Par contre, les trois souches de bactéries lactiques S₃ , S₁₁ et S₂₀ ont pu croître sur le milieu MRS avec 10% de NaCl.

- Une croissance de la plus part des souches sur le bouillon MRS à des pH 6,5 et 8 a été remarquée à l'exception de six souches. Par contre, seulement dix souches de bactéries lactiques possèdent la capacité de croissance à pH 4,5.

- Toutes les souches sont incapables de se multiplier à la température 44,5°C à l'exception des souches S₄, S₅ et S₁₉. A 4 °C, nous signalons le développement de quatre souches. Par contre, à 37 °C, neufs souches peuvent être se multiplier.

- La plus part des souches sont thermorésistantes, où nous observons une croissance sur le bouillon MRS après un traitement thermique pendant 30 minutes à 63,5°C. Cependant, seulement trois souches parmi les 25 sont dépourvues de la thermorésistance.



Photos 7. Effet de la concentration de NaCl sur la croissance des bactéries lactiques isolées ([A]: 2%, [B] : 4 %, [C]: 6,5%, [D]: 10 et [E]: témoin).

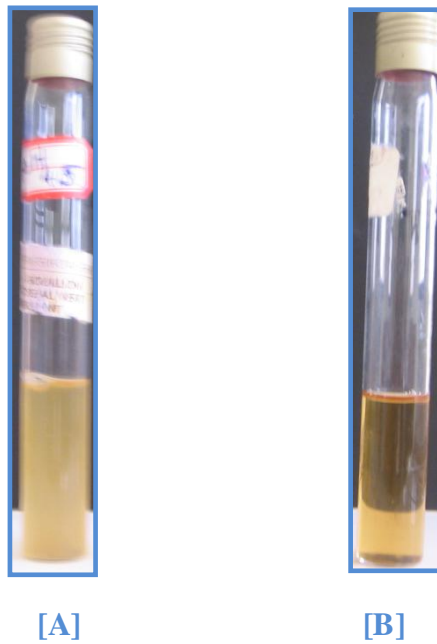


Photo 8. Effet de pH sur la croissance des bactéries lactiques isolées ([A]: pH 4,5, [B]: témoin).

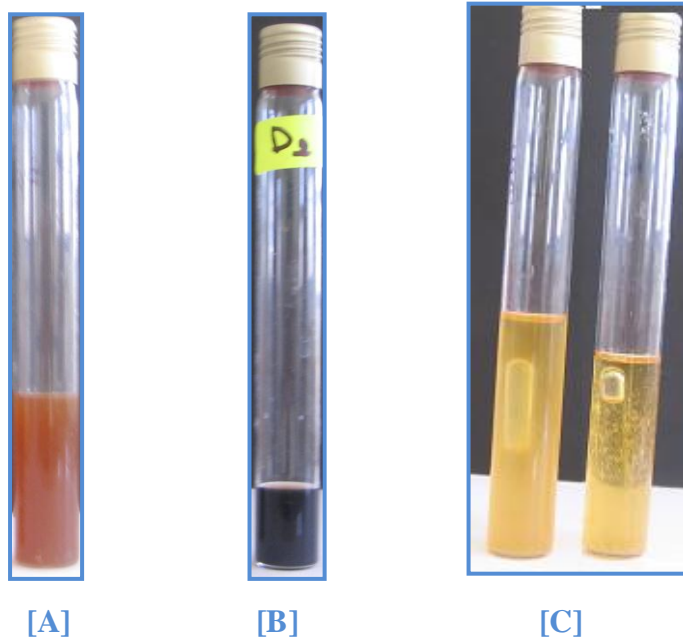
IV.4. Type fermentaire et hydrolyse d'esculine

Le résultat du type fermentaire et le test d'hydrolyse d'esculine est résumé dans le tableau11.

Tableau 11 : Type fermentaire et hydrolyse d'esculine.

Souche	Type fermentaire	Esculine
S ₁	++	+
S ₂	-	+
S ₃	-	+
S ₄	-	+
S ₅	-	+
S ₆	-	-
S ₇	-	+
S ₈	-	+
S ₉	-	+
S ₁₀	-	-
S ₁₁	--	-
S ₁₂	-	+
S ₁₃	-	+
S ₁₄	-	+
S ₁₅	-	+
S ₁₆	-	+
S ₁₇	-	+
S ₁₈	--	-
S ₁₉	++	-
S ₂₀	--	-
S ₂₁	--	-
S ₂₂	--	-
S ₂₃	++	-
S ₂₄	-	-
S ₂₅	-	-

Production de Gaz :- : négative (<1/10 du volume de la Cloche de Durham), + : faible (>1/10V), ++ : moyenne (≤2/3V).



Photos 9. [A] Aspect de cultures en Bouillon MRS (température, pH, NaCl), [B] test d'hydrolyse d'esculine et [C] type fermentaire.

Les résultats du tableau 11 montrent que :

- 19 souches isolées sont esculine négative, et 14 souches sont esculine positive.
- dix-huit souches sont homofermentaires et trois souches sont hétérofermentaires où il y a un dégagement de gaz.

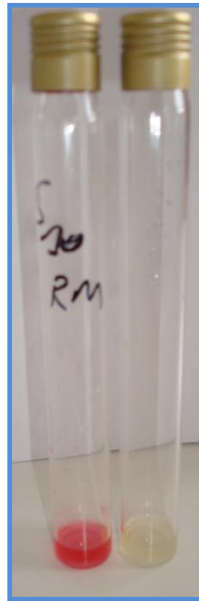
IV.5. Tests biochimiques classiques

Les 25 souches isolées ont été sélectionnées pour l'identification et le tableau 12 représente les résultats des tests biochimiques classiques d'identification.

Tableau 12 : Résultats des tests biochimiques classiques d'identification des souches isolées.

Souche	Mannitol Mobilité		Clark et Lubs		Urée Indole	Citrate de Simmons	TSI					
	Mannitol	Mobilité	RM	VP	Indole	Utilisation du citrate	H ₂ S	Gaz	Glucose	Saccharose	Lactose	
S ₁	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S ₂	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
S ₃	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+
S ₄	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+
S ₅	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S ₆	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+
S ₇	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S ₈	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+
S ₉	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+
S ₁₀	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S ₁₁	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+
S ₁₂	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S ₁₃	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+
S ₁₄	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+
S ₁₅	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S ₁₆	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S ₁₇	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S ₁₈	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S ₁₉	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
S ₂₁	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S ₂₂	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S ₂₃	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S ₂₄	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S ₂₅	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+ : test positif; - : test négatif.



[A]



[B]

Photo 10. Tests biochimiques classiques : Milieu Urée Indole ([A] : test RM) et Milieu TSI [B].

Selon les tests d'identification de la flore lactique du lait de vache, nous avons identifié 19 souches de bactéries lactiques, qui sont réparties en quatre espèces : *Lactococcus sp.* (S₁, S₄, S₁₅, S₁₆ et S₂₃), *Leuconostoc sp.* (S₂, S₃, S₆, S₈, S₁₂, S₁₃, S₁₄, S₁₇, S₁₉, S₂₁ et S₂₄) et *Lactobacillus sp.* (S₁₁), *Enterococcus sp.* (S₇ et S₂₅), et cela d'après les critères mentionnés par **Bourgeois et Larpent (1996)**.

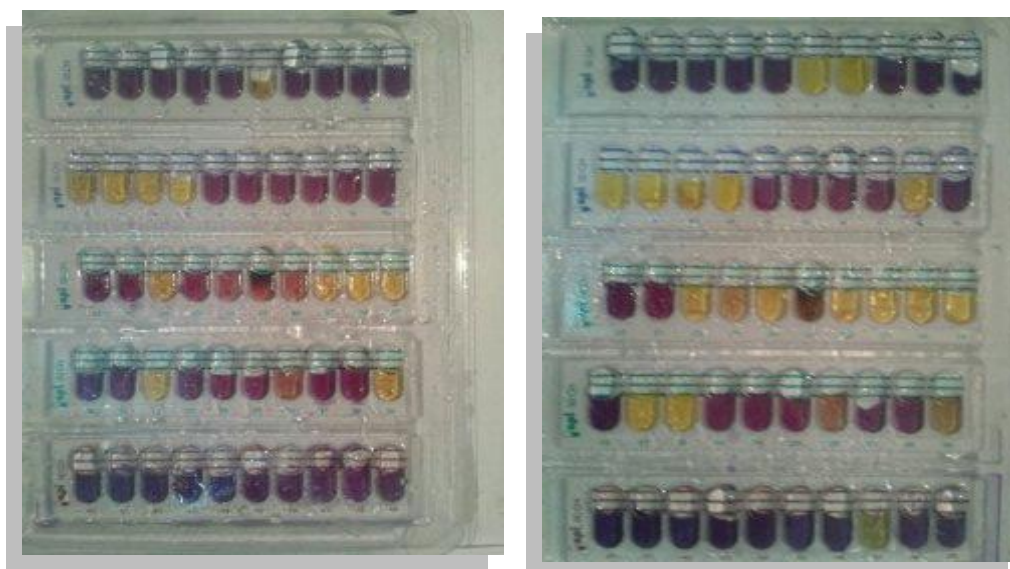
Tableau 13 : Résultats d'identification des souches isolées.

<i>Lactobacillus sp.</i>	<i>Enterococcus sp.</i>	<i>Lactococcus sp.</i>	<i>Leuconostoc sp.</i>
S ₁₁	S ₇	S ₁	S ₂
	S ₂₅	S ₄	S ₃
		S ₁₅	S ₆
		S ₁₆	S ₈
		S ₂₃	S ₁₂
			S ₁₃
			S ₁₄
			S ₁₇
			S ₁₉
			S ₂₁
			S ₂₄

D'après les travaux de **Ouadghiri (2009)** qui portent sur les analyses de dix-sept échantillons du fromage blanc traditionnel (Jben) du Maroc, les souches isolées ont été identifiées comme étant : *Lact. plantarum* (36 isolats), *Lact. rhamnosus* (8 isolats), *Lact. paracasei* (8 isolats), *Lact. brevis* (5 isolats), *Lact. buchneri* (1 isolat), *L. lactis* (42 isolats), *L. garvieae* (1 isolat), *L. raffinolactis* (1 isolat), *Leuc. pseudomesenteroides* (22 isolats), *Leuc. mesenteroides* (17 isolats), *Leuc. citreum* (5 isolats), *Ent. durans* (9 isolats), *Ent. faecalis* (6 isolats), *Ent. faecium* (1 isolat), *Streptococcus* sp. (2 isolats) et deux isolats sont restés non identifiés. Le nombre réduit d'espèces isolées dans notre peut être due au nombre d'échantillons.

IV.6. Résultats des galeries API 50 CH

Parmi les 25 souches isolées, 2 souches S₄ et S₁₅ ont été sélectionnées selon leur profil antimicrobien élevé (Tableau 22, annexe) pour une identification approfondie avec les galeries API 50 CH.



[S₄]

[S₁₅]

Photo 11. Résultat de la galerie API 50 CH des souches [S₄ : *Lactococcus lactis* ssp *lactis*2] et [S₁₅ *Lactococcus lactis* ssp *lactis*1].

C'est une étape confirmative indispensable dans l'identification des souches. Après 48h d'incubation, il a été remarqué un virage de la couleur du milieu de culture de pourpre au jaune dont 15 cupules de la galerie API 50CH de la souche S₄ et 20 cupules de la galerie API 50CH de la souche S₁₅. Ce virage de l'indicateur coloré est attribué à la production d'une quantité plus ou moins forte d'acide lactique par les deux souches en utilisant les sucres fermentescibles (tableau 23, annexe V).

L'interprétation de ces test a été faite par l'utilisation du logiciel PIBWin (Probabilistic Identification of Bacteria For Windows) (Trevor, 2010) qui suggère une appartenance de la souche S₄ à l'espèce *Lactococcus lactis ssp lactis 2* donnant une identité probabilistique de 98% avec le profile fermentaire typique de la même espèce. Par contre l'interprétation des résultats de la souche S₁₅ suggère une appartenance à l'espèce *Lactococcus lactis ssp lactis 1* donnant une identité probabilistique de 99.7 % avec le profile fermentaire typique de la même espèce.

V. Résultats d'antagonisme

V.1. Antagonisme bactéries lactiques / *Escherichia coli* ATCC 8739

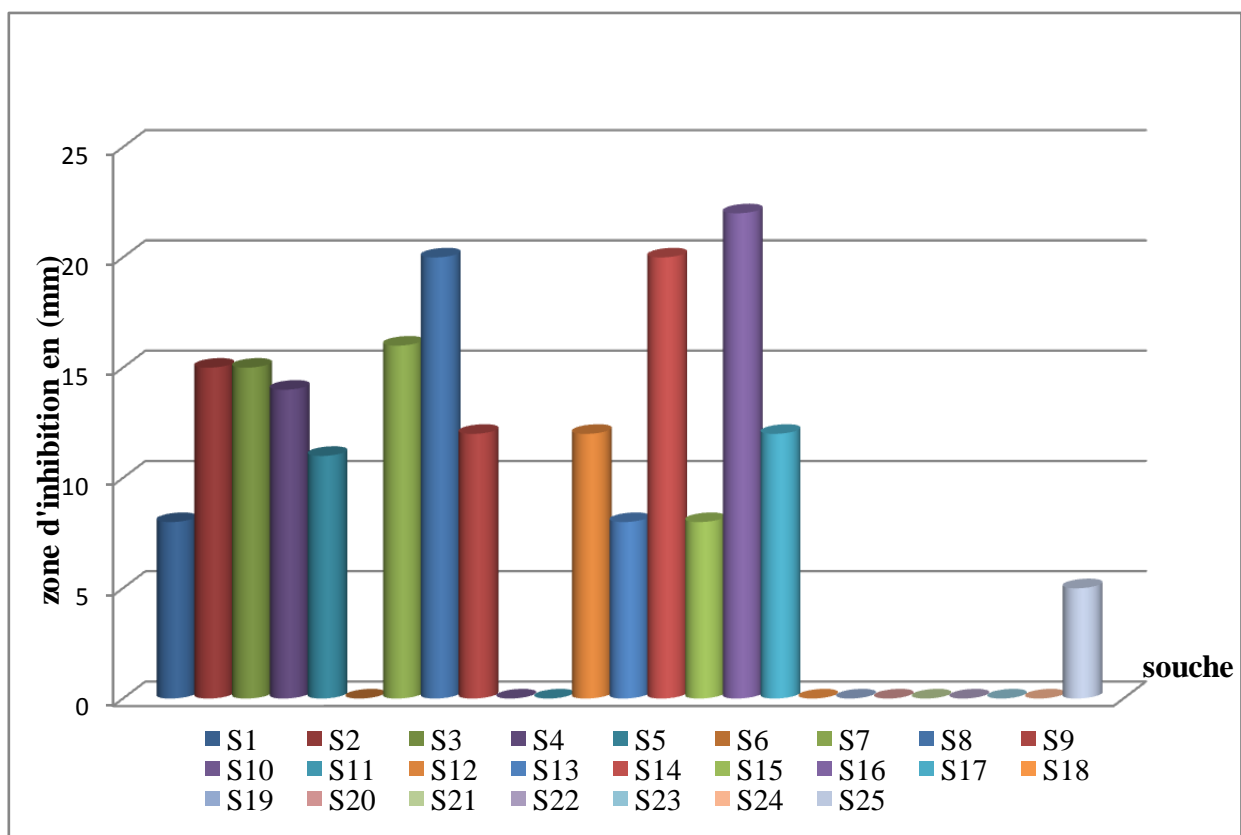


Figure 3. Résultats des interactions entre les souches de bactéries lactiques et *Escherichia coli*.

La figure 3 indique que les diamètres des zones d'inhibition varient entre 5 et 16 mm pour la majorité des souches, mais ils peuvent atteindre 20 (S₈ et S₁₄) et 22 mm (S₁₆).

V.2. Antagonisme bactéries lactiques / *Staphylococcus aureus* ATCC 653

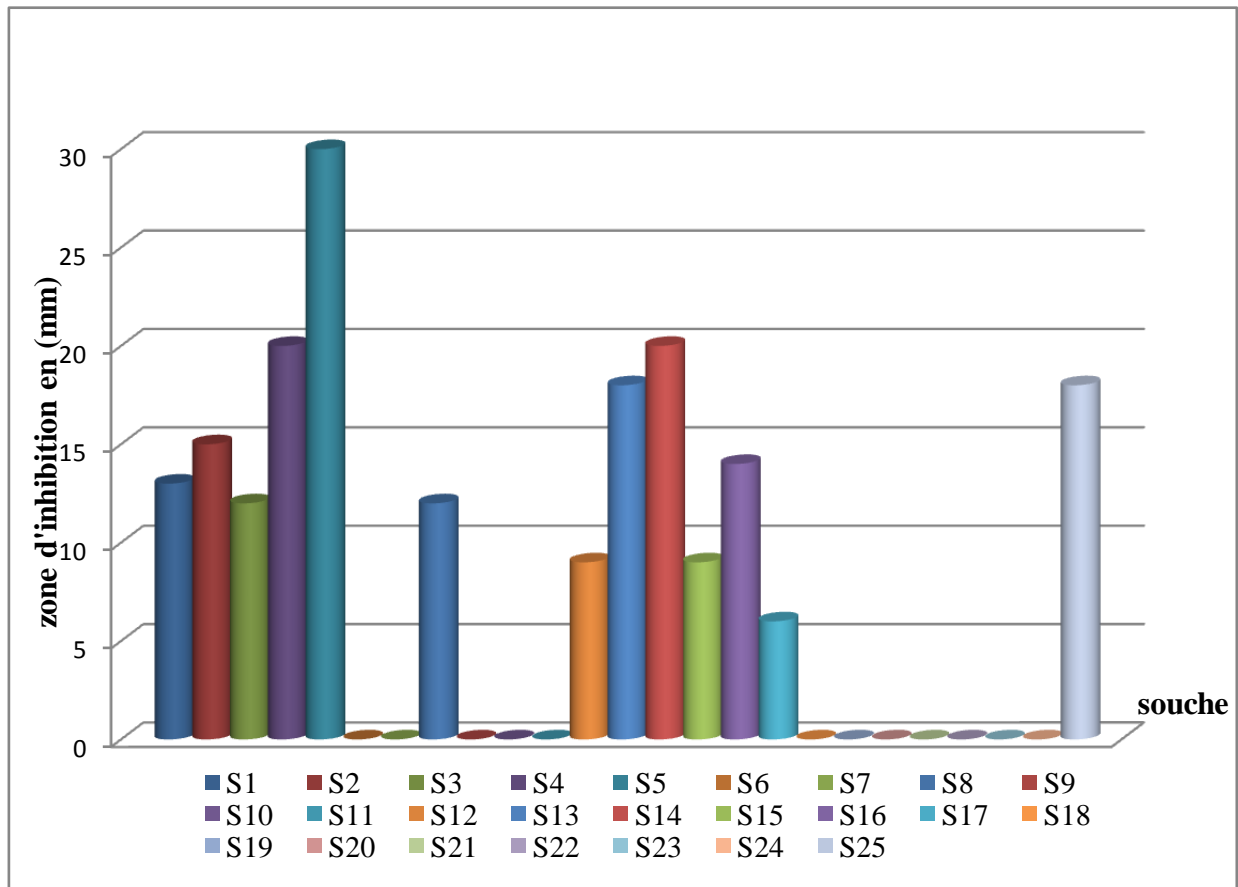


Figure 4. Résultats des interactions entre les souches de bactéries lactiques et *Staphylococcus aureus*.

Concernant *Staphylococcus aureus*, les diamètres des zones d'inhibition sont importants pour les souches S₅, S₄ et S₁₄ de l'ordre de 30, 20 et 20 mm, respectivement. Pour les autres souches, les diamètres sont plus inférieurs et varient entre 0 et 15 mm.

V.3. Antagonisme bactéries lactiques / *Klebsiella pneumoniae* ATCC 130

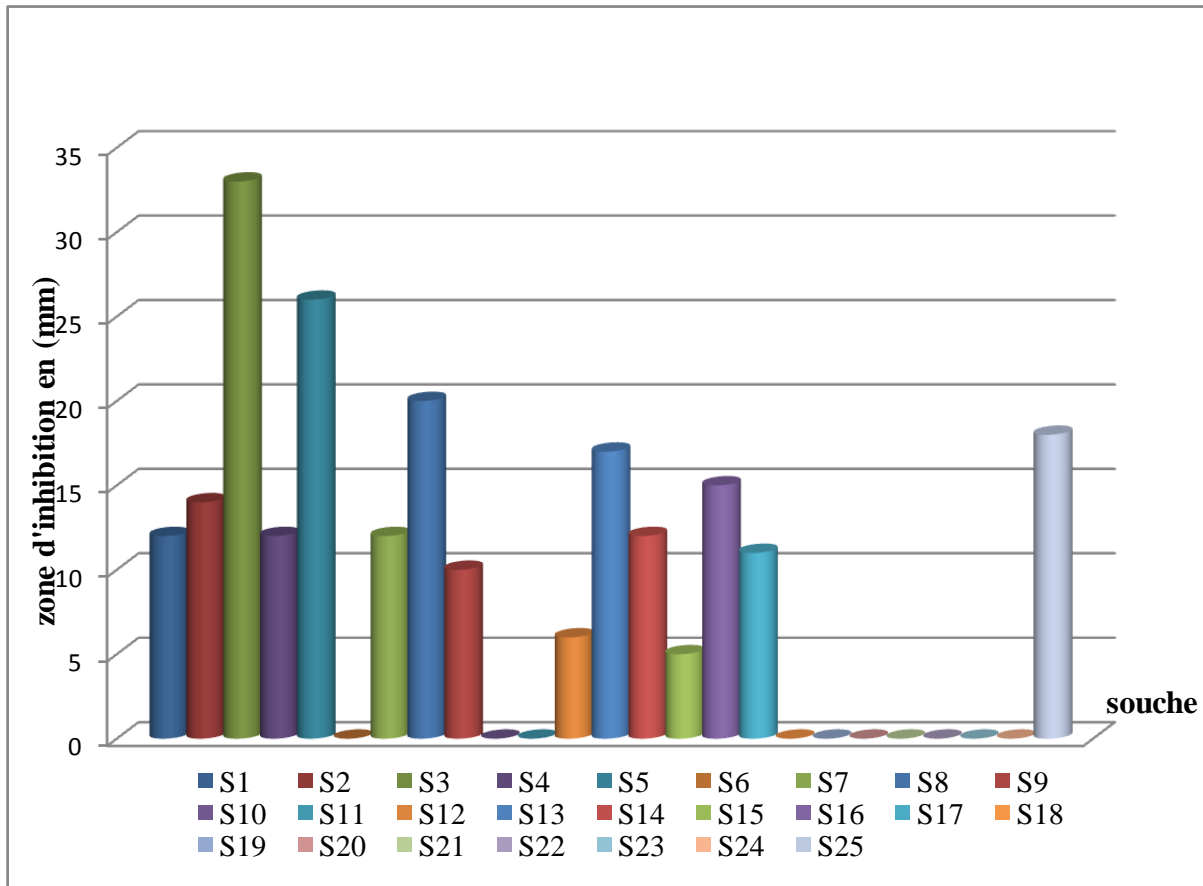


Figure 5. Résultats des interactions entre les souches de bactéries lactiques et *Klebsiella pneumoniae*.

Pour *Klebsiella pneumoniae*, les diamètres des zones d'inhibition sont plus inférieurs et varient entre 1 et 18 mm pour la majorité des souches, mais ils peuvent atteindre 20, 26 et 33 mm pour les souches S₈, S₅ et S₃, respectivement.

V.4. Antagonisme bactéries lactiques / *Listeria monocytogenes* ATCC 15313

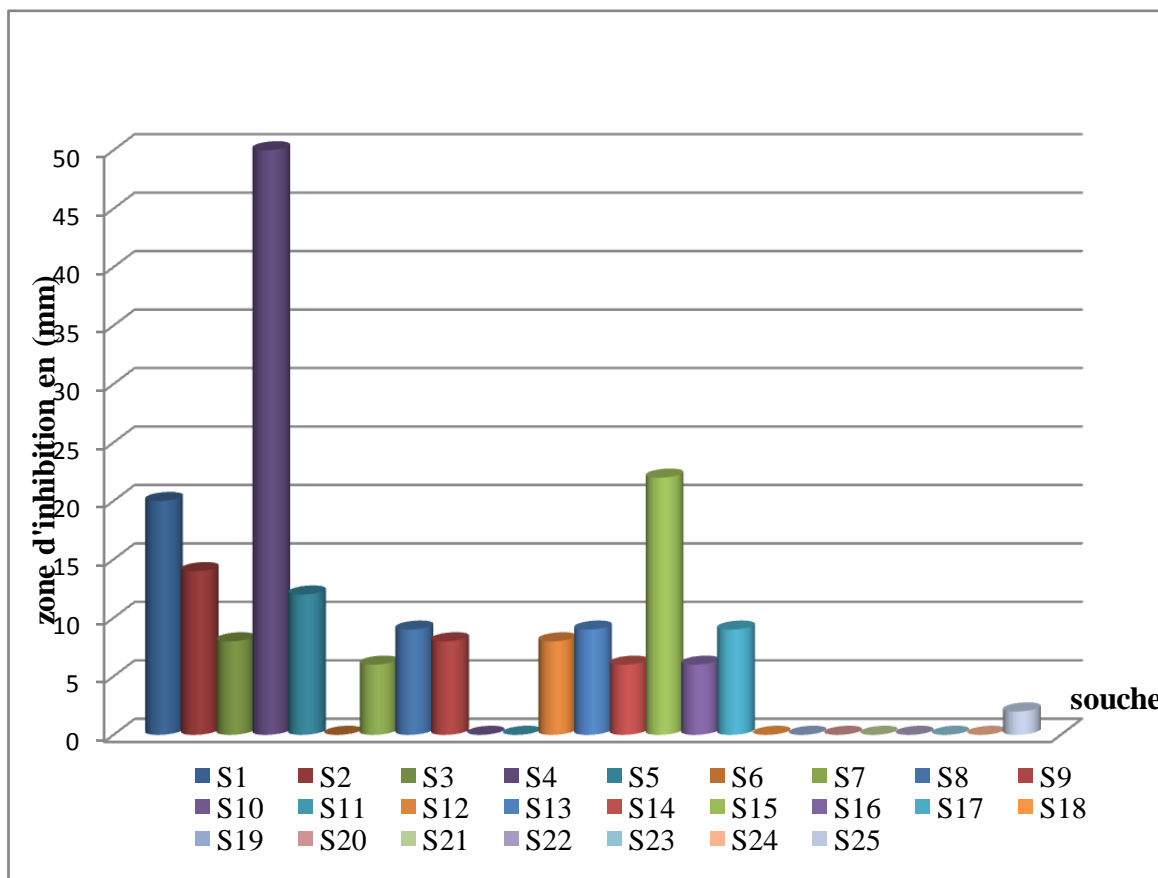


Figure 6. Résultats des interactions entre les souches de bactéries lactiques et *Listeria monocytogenes*.

Selon l'histogramme de la figure 6, les diamètres des zones d'inhibition de la plupart des souches de bactéries lactiques varient entre 0 et 9 mm, mais ils atteignent 20, 22 et 50 mm pour les souche S₁, S₁₅ et S₄, respectivement.

V.5. Antagonisme bactéries lactiques / *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

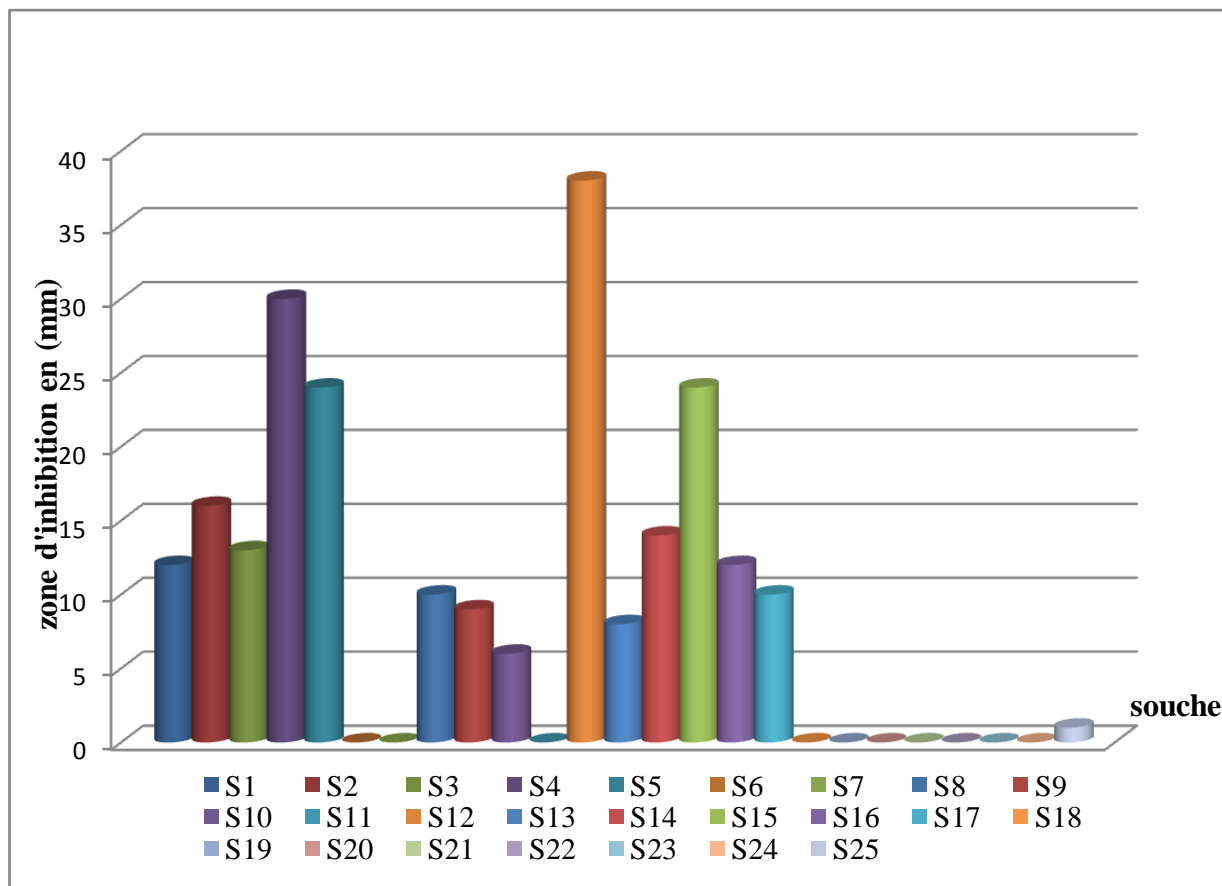


Figure 7. Résultats des interactions entre les souches de bactéries lactiques et *Pseudomonas aeruginosa*.

La figure 7 indique que les diamètres des zones d'inhibition de la plupart des souches de bactéries lactiques varient entre 0 et 14 mm, mais ils peuvent aller jusqu'à 24, 30 et 38 mm pour les souches S₅, S₁₅, S₄ et S₁₂, respectivement.

V.6. Antagonisme bactéries lactiques / *Micrococcus luteus* ATCC 9341

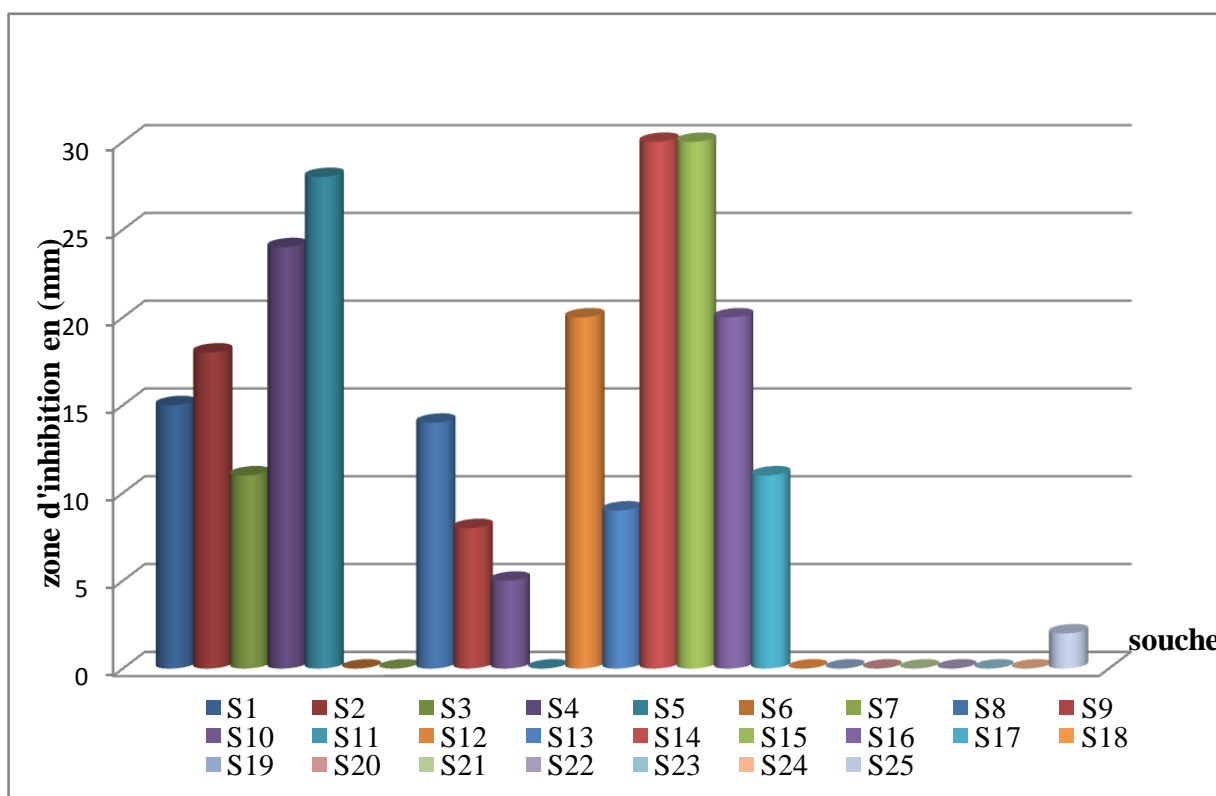


Figure 8. Résultats des interactions entre les souches de bactéries lactiques et *Micrococcus luteus*.

Selon l'histogramme de la figure 8, les diamètres des zones d'inhibition sont très faibles (2 mm) pour la souche S₂₅ et varient entre 8 et 15 mm pour les souches S₉, S₁₃, S₃, S₁₇, S₈ et S₁. Mais, ils peuvent atteindre 20 mm pour les souches S₁₂ et S₁₆ et 30 mm pour les souches S₁₄ et S₁₅.



[A]



[B]



[C]

Photos 12. Activités antibactériennes des souches lactiques vis-à-vis :

[A]: *L. monocytogenes*, [B]: *S. aureus* et [C]: *E. coli*.

L'inhibition de la microflore pathogène et de contamination des aliments est un souci inquiétant en ce qui concerne la transformation des produits alimentaires.

La réduction des cas des intoxications alimentaires due aux germes nuisibles peut se réaliser par l'exploitation des potentialités des bactéries lactiques capables de produire des substances diverses dotées d'une activité antimicrobienne.

Des efforts considérables ont été consacrés au cours de ces cinquante dernières années pour affermir la compréhension de la physiologie, de la biochimie et de la génétique des bactéries lactiques. Toutes ces recherches ont permis aux microbiologistes et aux industriels de choisir les meilleures souches et d'améliorer la productivité, la qualité et la sûreté des produits finis.

La capacité de compétition de bactéries lactiques résulte de leurs activités fermentaires associées à la production de divers composés antimicrobiens dans le but d'inhiber la prolifération de microorganismes. De nombreuses substances à activité antagoniste produites par les bactéries lactiques ont régulièrement été mises en évidence (**Rodrigues et al., 2002 et Mansour et al., 2004**).

Au laboratoire de microbiologie en exploitant les potentialités inhibitrices naturelles par des tests d'interaction entre les bactéries pathogènes et les isolats de bactéries lactiques, qui nous ont permis de remarquer que le diamètre des zones d'inhibition varie selon l'espèce (**Prioult, 2003**).

Les microorganismes pathogènes testés dans notre étude sont impliqués dans les toxi-infections ou les intoxications alimentaires appartiennent aux espèces suivantes : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Listeria monocytogenes*. *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus luteus* et *Klebsiella pneumoniae*.

Les résultats des interactions montrent que, 17 souches parmi les 25 souches isolées possèdent un effet inhibiteur contre les 6 souches pathogènes utilisées. Nous avons remarqué que la souche S₄ est la plus active sur les six bactéries pathogènes, suivie par les souches S₅ et S₁₅ à l'exception pour *Klebsiella pneumoniae*.

Pour les autres souches, le diamètre des zones d'inhibition varie entre 1 et 20 mm avec une activité remarquable sur *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* et *M. luteus* pour S₁₆, S₃, S₁₂ et S₁₄, respectivement. Ces valeurs coïncident pour certaines souches avec les travaux de **Belyagoubi et Abdelouahid (2013)**, où les diamètres des zones d'inhibition de bactéries lactiques isolées des produits laitiers traditionnels d'Algérie sont de l'ordre de 4 mm jusqu'à 34 mm sur les mêmes bactéries pathogènes.

D'après les travaux de **Boudjani (2009)**, les diamètres des zones d'inhibition de bactéries lactiques isolées du lait cru de vache peuvent atteindre environ 20 mm.

Les travaux de **Savadogo et al., (2004)**, ont reporté que les diamètres des zones d'inhibition des bactéries lactiques isolées du lait fermenté sont de l'ordre de 9 à 10 mm vis-à-vis de *S. aureus* et de 8 à 9 mm vis-à-vis d'*E. coli*.

En comparaison avec les travaux de **Benmammar et Hamsi (2003)**, qui ont trouvé des zones inhibition des souches de *Leuconostoc sp.* de lait cru de brebis sur *L. monocytogenes* de 4 à 10mm, et sur *S. aureus* de 6 à 10 mm, et sur *E. coli* de 2 à 4 mm, nos trois souches identifiées comme des *Leuconostoc sp.* sont plus actives sur *S. aureus* (7 à 14 mm) et *E. coli* (8,5 à 12 mm). Par contre elles sont moins actives sur *L. monocytogenes* (3,5 à 5 mm).

C'est grâce aux propriétés antimicrobiennes des métabolites qu'ils synthétisent tels que l'éthanol, le peroxyde d'hydrogène, le diacétyle (**Atrih et Foster, 2001**), les composés antifongiques (**Corsetti et al., 1998**), les acides phényllactiques (**Lavermicocca et al., 2000**), les antibiotiques comme la reutéricycline (**Höltzel et al., 2000**) et les bactériocines, que les bactéries lactiques sont reconnues comme de bons agents de conservation des produits alimentaires (**Abee et al., 1995, Klaenhammer, 1988**). Dans ce contexte, les bactéries lactiques et/ ou leurs métabolites utilisés depuis des millénaires d'une façon empirique par de nombreuses populations, peuvent contribuer à la conservation des aliments (**Ross et al., 2002**). Aussi, l'industrie agroalimentaire en Europe s'intéresse à l'utilisation des bactériocines comme bioconservateurs (**Robertson et al., 2004**).

Les milieux permettant le développement de ces bactéries sont complexes du point de vue nutritionnel ; ils représentent d'une manière générale, soit des substrats de fermentation, soit des écosystèmes digestifs, comme c'est le cas pour les bactéries lactiques séjournant dans le tractus intestinal humain ou animal. La capacité de compétition de ces bactéries résulte de leurs activités fermentaires associées à la production de divers composés antimicrobiens dans le but d'inhiber la prolifération de microorganismes. De nombreuses substances à activité antagoniste produites par les bactéries lactiques ont régulièrement été mises en évidence (**Rodrigues et al., 2002 et Mansour et al., 2004**).

Les bactériocines font partie de ces composés antimicrobiens inhibiteurs qui confèrent aux souches productrices des avantages écologiques dans leur niche spécifique, telle que la nisine qui est utilisée comme additif bio-préservateur dans l'agroalimentaire (**Benhamouche, 2005**).

Conclusion

Cette étude nous a permis d'avoir une idée sur la composition de la flore microbiologique en bactéries lactiques d'un produit laitier traditionnel du sud algérien (Jben). Ce produit montre une très grande diversité d'espèces qui dépend des régions et des modes de fabrication. Au total, 25 souches ont été identifiées avec des caractères différentes. La comparaison des résultats obtenus dans ce travail avec ceux des autres travaux sur des produits similaires, mais dans d'autres pays, permet de conclure que l'Algérie dispose d'une biodiversité riche et particulière, et que ses produits laitiers traditionnels peuvent être une source précieuse de souches avec des propriétés antimicrobiennes intéressantes.

Au cours de notre étude dont le but était de mettre en valeur les activités antibactériennes et la sélection des souches qui peuvent jouer le rôle de flore de barrière à l'encontre des bactéries pathogènes et qui peuvent participer à la conservation du lait ou produits laitiers en produisant des substances susceptibles d'inhiber les bactéries responsables de son altération.

Le test des interactions entre les souches lactiques isolées et les souches pathogènes a révélé des zones d'inhibition bien distinctes dont le diamètre peut atteindre 50 mm.

Nous concluons que les produits laitiers traditionnels constituent une source de nouvelles souches antimicrobiennes.

Nous espérons donner suite à ces travaux afin d'identifier les substances antimicrobiennes car pour cela la réalisation d'une série de test est impérative à savoir le peroxyde, le phage, et l'effet des enzymes protéolytiques pouvant confirmer que la nature de cette substance pourrait être une bactériocine afin de l'intégrer dans le domaine pharmaceutiques ou agroalimentaires.

Références bibliographiques

A

- ✚ Abee, T., Krockel, L., Hill, C., 1995. Bacteriocins: modes of action and potentials in food preservation and control of food poisoning. *Int J Food Microbiol.* **28**:169-185.
- ✚ Ai, L., Zhang, H., Guo, B., Chen, W., Wu, Z., Wu, Y. (2008). Preparation, partial characterization and bioactivity of exopolysaccharides from *Lactobacillus casei* lc2w. carbohydrate polymers, **74** : 353-357.
- ✚ Agioux, L. (2003). Conception et Validation d'un outil d'aide à l'estimation de l'état sensoriel des fromages en cours d'affinage. thèse doctorat .institut National Agronomique de Paris Grignon. 192pages.
- ✚ 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
- ✚ Ammor, S., Rachman, C., Chaillou, S., Prévost, H., Dousset, X., Zagorec, M., Dufour, E., Isabelle Chevallier, I. (2005). Phenotypic and genotypic identification of lactic acid bacteria isolated from a small-scale facility producing traditional dry sausages. *food microbiology*, **22** : 373-382.
- ✚ Ammor, M.S., Mayo, B. (2007). selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production, an update. *Meat science*, **76** : 138-146.
- ✚ Ananou, et al., (2005) . In Boudjani, W. (2009). Action de la flore lactique sur les bactéries de contamination. Mémoire d'ingénieur, Institut de biologie, Université de Tlemcen. 73 pages.
- ✚ Auld, M.J., Walsh, B.J. and Thomson, N.A. (1998). Seasonal and lactational influences on bovine milk composition in New Zealand. *J. Dairy Res.* **65**: 401–411.
- ✚ Atrih, A., and Foster, S. J. (2001a) Analysis of the role of bacterial endospore cortex structure in resistance properties and demonstration of its conservation amongst species. *J Appl Microbiol.* **91**: 364-372.
- ✚ Attallah, A., Belyagoubi, L. (2003). Isolement et caractérisation de souches de *Listeria* dans le lait cru provenant de différentes régions de l'Ouest Algérien au niveau de la réception de G. P.I. Lait de Tlemcen. Mémoire d'ingénieur, Institut de Biologie, Université de Tlemcen. 63 pages

B

- ✚ Badis, A., Guetarni, D., Kihal, M., Boudjemaa, M. (2003). Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. In *Food and microbiology*, 579-588.
- ✚ Badis, A., Guetarnib, D., Moussa Boudjemaa, B., Hennis, D.E., Kihal, M. (2004). Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. *Food Microbiology*, **21**:579–588
- ✚ Badis, A., Guetarni, D., Moussa-Boudjemaa, B., Henni, D.E., Tornadijo, M.E., Kihal, M. (2004). Identification of cultivable lactic acid bacteria isolated from Algerian raw goat's milk and evaluation of their technological properties. *Food Microbiology*, **21** : 343–349.
- ✚ Badis, A., Guetarni, D., Kihal, M. et 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.
- ✚ Bekhouche et Boulahrouf, (2005). Etudes quantitative et qualitative des bactéries lactiques de lait cru produits par des vaches locales appartenant à six stations d'élevage de Constantine. *Sciences & Technologie C – N°23*,38-45.
- ✚ Belyagoubi, L. and Abdelouahid, D.E. (2013). Isolation, identification and antibacterial activity of lactic acid bacteria from traditional Algerian dairy products. *Advances in Food Sciences*. **35** (1) :84- 85
- ✚ Bendanou. (1981). L'industrie beurrière chez les pasteurs nomades du sud-Algérien. Communication faite à l'Office Colonial de l'Algérie, 570-580.
- ✚ Benhamouche. (2005). In Boudjani, W. (2009). Action de la flore lactique sur les bactéries contamination. Mémoire d'ingénieur, Institut de biologie, Université de Tlemcen. Pages 73.
- ✚ 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.
- ✚ Benmammer, F. et Hamsi, S. (2003). In Boudjani, W. (2009). Action de la flore lactique sur les bactéries contamination. Mémoire d'ingénieur, Institut de biologie, Université de Tlemcen. Pages 73.

- ✚ Berche, P. (1999). Physiopathologie et diagnostic bactériologique des infections materno-infantiles à *Listeria monocytogenes*, Médecine thérapeutique/ Pédiatrie, *Revue maladies mitochondriales*, 2(1)
- ✚ Bottazzi, V., Mercenier, A. (1994). Propriétés prophylactiques et thérapeutiques des bactéries lactiques. Dans : Bactéries lactiques. H De Roissart et F.M. Luquet. Eds, Loriga-Uriage, 2 : 409-418.
- ✚ Boudjani, W. (2009). Action de la flore lactique sur les bactéries contamination. Mémoire d'ingénieur, Institut de biologie, Université de Tlemcen. Pages 73.
- Bourgeois, C.M., Mescle, J.F. et Zuca, J. (1996). Lait et les produits laitiers non fermentés, Microbiologie alimentaires. Tome 1, aspect micro biologique de la sécurité et de la qualité des aliments.
- Bourgeois, C. M., Larpent, J.P. (1996). Aliments fermentés et fermentation alimentaire, Microbiologie alimentaires. Tome 2. Ed © Technique Documentation Lavoisier, Paris.
- Bouzid. (2008). In Boudjani, W. (2009). Action de la flore lactique sur les bactéries contamination. Mémoire d'ingénieur, Institut de biologie, Université de Tlemcen. Pages 73.
- Brisabois, A., Lafarge, V., Brouillaud, A., De Buyser, M.L., Collette, C., Garin-Bastuji, B. and Thorel, M.F. (1997). Pathogenic micro-organisms in milk and dairy products: the situation in France and in Europe. *Rev. Sci. Tech. OIE* 16: 452–471.
- Bugnicourt, M. (1995). Dictionnaire de microbiologie générale. Edition ellipses. 991 pages.

C

- Carr, F.J., Chill, D., et Maida, N.(2002). The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey. *Critical Rev. Microbiol*, 28 : (4) 281-370.
- ✚ Casaburi, A., Di Monaco, R., Cavella, S., Toldra, F., Ercolini, D., Villani, F.(2008). proteolytic and lipolytic starter cultures and their effect on traditional fermented sausages ripening and sensory traits. *Food microbiology*, 25 : 335-347.
- ✚ Champagne et al., (1992). In Boudjani, W. (2009). Action de la flore lactique sur les bactéries contamination. Mémoire d'ingénieur, Institut de biologie, Université de Tlemcen. 73 pages.

- ✚ Cheriguene, A., Chougrani, F., Bekada, A.M.A., El Soda, M. and Bensoltane, A. (2007). Enumeration and identification of lactic microflora in Algerian goat's milk. In *African Journal of Biotechnology*, **6** (15) : 1854-1861.
- ✚ Chye, F.Y., Abdullah, A. and Ayob, M.K. (2004). Bacteriological quality and safety of raw milk in Malaysia. *Food Microbiol*, **21**: 535–541.
- ✚ Cniel. (2006). Produit laitier. Maison de lait.
- ✚ COFRAC.(1999) .Analyse des produits laitiers, méthodes physico-chimiques. Programme n°61-03.
- ✚ Collins, M.D., Jons, D. (1981).Growth Bifidobacteria in milk and preparation of Bifidobacteria infantis for a dietary adjunct. *J. Dairy Sci*, **67** : 1376-1380.
- ✚ Corsetti, A., Gobbetti, M., Rossi, J., and Damiani, P. (1998) Antimould activity of sourdough lactic acid bacteria: identification of a mixture of organic acids produced by *Lactobacillus sanfrancisco* CB1. *Appl Microbiol Biotechnol*.**50**: 253-256.
- ✚ Coulon, J.B., Pradel, P. and Verdier, I. (1995). Effect of forage type on milk yield, chemical composition and clotting properties of milk. *Lait*, **75**: 513–521

D

- ✚ Dellaglio, F., De Roissart, H., Torriani, S., Curk, M. et Janssens, C. (1994) In : Bactéries lactiques aspects fondamentaux et technologiques, **1** : 25-114.
- ✚ De Roissart, H. et Luquet, F.M. (1994). Les bactéries lactiques. *Uriage, Lorica, France*, **1** : 1- 286
- ✚ Desmazeaud, M. (1996). L'état des connaissances en matériel de nutrition de bactéries lactiques. *le lait*, **63** : 267-16.
- ✚ Dortu, C. et Thonart, P. (2009). Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 143-154.
- ✚ Drewnowski, A. (2005). Concept of a nutritious food: Towards a nutrient density score. *Am. J. Clin. Nutr*, **82**: 721–732.
- ✚ Drouault, S. et Corthier, G. (2001). Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés.

E

- ✚ Eck, A. et Gillis , J.C. (1997). Le fromage. 3^{ème} édition. Paris, Lavoisier

- ✚ Ercolini, D., Russo, F., Ferrocino, I. and Villani, F. (2009). Molecular identification of mesophilic and psychrotrophic bacteria from raw cow's milk. *Food Microbiol*, **26**: 228–231

F

- ✚ Federighi, M. (2005). Bactériologie Alimentaire compendium d'hygiène des aliments. 2^{ème} Edition, Economica. 292 pages.
- ✚ Fleming, H.R., Etchell, G.L., Costilow, R.N. (1985). Microbial inhibition by isolate of pediococcus from cucumber brine. *Appl and Microbiology*, **30**:104-1042.

G

- ✚ Gonzalez, et al., (2007). In Boudjani, W. (2009). Action de la flore lactique sur les bactéries contamination. Mémoire d'ingénieur, Institut de biologie, Université de Tlemcen. 73 pages.
- ✚ Gravesen, A., Ramnath, M., Rechinger, K.B., Andersen, N., Jänsch, L., Héchard, Y., Hastings, J.W., Knochel, S. (2002). High-level resistance to class IIa bacteriocins is associated with one general mechanism in *L. monocytogenes*. *Microbiology*, **148** : 2361- 2369.
- ✚ Guiraud, J.P. (1998). Microbiologie des principaux produits alimentaires, Microbiologie alimentaire. Ed ©Dunod, Paris.
- ✚ Guiraud, J.P., Rosec, J.P. (2004). Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Afnor. Saint-Denis la plaine, Paris. 300 pages.

H

- ✚ Haut Commissariat au Plan (2004). Enquête nationale de consommation des ménages (ENCDM). Royaume du Maroc. 225 p.
- ✚ Hebboul, F.Z., Mazouzi, H., Soltani, S. (2005). Etude comparative de la qualité alimentaire entre trois types de lait frais : bovin, caprin, camelin. Mémoire d'ingénieur, Département de Biologie, Université de Laghouat. 71 pages.
- ✚ Héchard, Y., Pelletier, C., Cenatiempo, Y., Frère, J. (2001) Analysis of sigma(54)-dependent genes in *Enterococcus faecalis* : a mannose PTS permease (EII(Man)) is involved in sensitivity to a bacteriocin, mesentericin Y105. *Microbiology*, **147** : 1575-1580.

- ✚ Hermier, J., Lenoir, J., Weber, F. (1997). Rôle des bactéries lactiques dans la production des facteurs anti microbien, les groupes microbien d'intérêt laitier. Ed. Cepil. Paris, 9-60.
- ✚ Heyman, M., Heuvelin, E. (2006). Micro-organismes probiotiques et régulation immunologique le paradoxe. *Nutrition clinique et métabolisme*, **20** : 85–9.
- ✚ Hikmate, A., Benomar, N., Antonio, C., Caballero, N., Miguel, Á. F.F., Pérez-Pulido, R. Gálvez, A. (2012). Characterization of lactic acid bacteria from naturally-fermented Manzanilla Aloreña green table olives. *Food Microbiology*, **32** :308-316
- ✚ Höltzel, A., , Gänzle, M. G., Nicholson, G. J., Hammes, W. P., and Jung, G. (2000) The First Low Molecular Weight Antibiotic from Lactic Acid Bacteria: Reutericyclin, a New Tetramic Acid. *Angew Chem Int Ed Engl.***39**: 2766-2768.
- ✚ 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.
- ✚ Huyghebaert. (2006). Stratégies des produits à base de lait cru. Bruxelles.

J

- ✚ Jedidi, H. (2007). Effet du stress gastro-intestinal sur la physiologie et le métabolisme des bactéries lactiques et probiotiques. Mémoire de Maître Es-Sciences, Institut de biologie, Université de Tlemcen. Université Laval Québec. 90 pages
- ✚ Johnson, M. E. & Steele, J. L. (2001). Fermented dairy products. Dans *Food microbiology : fundamentals and frontiers*, 651 -664. Édité par M. P. Doyle, L. R. Beuchat & T. J. Montville. Washington: ASM Press.

K

- ✚ Kacem, M. et Karam, N. (2006). Physicochemical and microbiological study of «Shmen», a traditional butter made from camel milk in the Sahara (Algeria): isolation and identification of lactic acid bacteria and yeast.
- ✚ Kagembega, J. M. (1984). Contribution à l'étude de la salubrité des laits caillés et yaourt à Dakar. *Th. Phann., Dakar*, n° 24.
- ✚ Kandler, O., Weiss, N., (1986) . Genus Lactobacillus. In : Bergey's Manual of Systematic Bacteriology., vol 2. P.H.A, Sneath., N.S, Mair., Sharpe, M.E., Holt, J.G (Ed). Williams and Wilkins, Baltimore, M.D.
- ✚ Kaper, J. B. et al. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol*. p. 123.

- ✚ Klaenhammer, T. R. (1988) Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Biochimie*.**70**: 337-349.
- ✚ Kostinek, M., Specht, I., Vinod, A., Edward., Ulrich Schillinger, U., Hertel, C., Wilhelm, H., Holzapfel, Charles, M. A. P., Franza. (2006). Diversity and technological properties of predominant lactic acid bacteria from fermented cassava used for the preparation of Gari, a traditional African food. *Systematic and Applied Microbiology*, **28**: 527–540.

L

- ✚ Laease, (2005). In Boudjani, W. (2009). Action de la flore lactique sur les bactéries contamination. Mémoire d'ingénieur, Institut de biologie, Université de Tlemcen. 73 pages.
- ✚ Larpent, J.P, (1997). Mémento technique de microbiologie .3^{ème} Ed. Technique et Documentation Lavoisier. Paris. 910 pages.
- ✚ Laurent, S. (1998). Manuel de bactériologie alimentaire. *Poly technica Paris*. 307 pages.
- ✚ Lavermicocca, P., Valerio, F., Evidente, A., Lazzaroni, S., Corsetti, A., and Gobetti, M. (2000) Purification and characterization of novel antifungal compounds from the sourdough *Lactobacillus plantarum* strain 21B. *Appl Environ Microbiol*.**66**: 4084-4090.
- ✚ Leyral, G., Vierling, E. (2001). Microbiologie et toxicologie des aliments .3^{ème} édition Doin. France . P. 87-114.
- ✚ Lhsaoui, S. (2009). Etude de procédé de fabrication d'un fromage traditionnel (klila). Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention de diplôme d'Ingénieur Université El Hadj Lakhdar Batna, Département d'Agronomie.
- ✚ Luquet, F.M. et Corrieu, G. (2005). Bactéries lactiques et probiotiques. Edition Lavoisier, Paris. 307 pages.

M

- ✚ Marchal, N., Bourdon, J.L.et Richard, CL. (1991). Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries .3^{ème} Ed. , Doin éditeurs, Paris.
- ✚ Martin, P., Jacquet, C. (2000). Centre national de référence des *Listeria*, Institut Pasteur.
- ✚ Martin, P. (2002). La Listériose, le laboratoire de *Listeria*, Institut Pasteur.

- ✚ Menard, J.L., Roussel, P., Masselin-Silvin, S., Puthod, R., Hetreau, T., Foret, A., Houssin, B., Aracil, C. and Le Guenic, M., (2004). Contamination bactérienne d'une litière de stabulation libre paillée: effet de la fréquence de paillage et proposition d'une méthode pour son évaluation. In: Rencontres sur les Recherches autour des Ruminants. *Institut de l'Elevage – INRA*, Paris, **11** : 333–336.
- ✚ Mennane, Z., Khedid, K., Zinedine, A., Lagzouli, M., Ouhssine, M. and Elyachioui, M. (2007) .Microbial Characteristics of Klila and Jben Traditionnal Moroccan Cheese from Raw Cow's Milk. *World Journal of Dairy & Food Sciences* , **2** (1): 23-27.
- ✚ Moll, M. et Moll, N. (1995). *Listeria* et listériose humaine in Sécurité alimentaire du consommateur, 23 –34.
- ✚ Muthukumarasamy, P., Holley, R.A. (2006). Microbiological and sensory quality of dry fermented sausages containing alginate-microencapsulated *Lactobacillus reuteri*. *International Journal of Food Microbiology*, **111**: 164-169.

N

- ✚ Nilsen, T., Nes, I.F., Holo, H. (2003) Enterolysin A, a cell wall-degrading bacteriocin from *Enterococcus faecalis* LMG2333. *Appl. Environ. Microbiol.*, **69**(5): 2975-2984.

O

- ✚ 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

P

- ✚ Patrignani, F., Lanciotti, R., Mathara, J. M., Guerzoni, M. E. and Holzapfel. W. H. (2006). Potential of functional strains, isolated from traditional Maasai milk, as starters for the production of fermented milks, *Int. J. Food Microbiol.*, **107**: 1 – 11
- ✚ Paul Ross, R., Morgan, S. and Hill, C. (2002). Preservation and Fermentation: present and future. *Int. J. Food. Microbiol.*, **79**: 3 – 16.
- ✚ Pfeiler, E.A. and Klaenhammer, T.R. (2007). The genomics of lactic acid bacteria, *Trends Microbiol.*, **12**: 546-553.

- ✚ Pot, B. (2008) The taxonomy of lactic acid bacteria. In: Corrieu, G., and Luquet, F. M. (Eds). *Bactéries lactiques. De la génétique aux ferments. Lavoisier. Paris, France*, 1-152.
- ✚ 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.
- ✚ Prioult, G. (2003). Effet des probiotiques sur l'induction et le maintien de la tolérance orale à la β -lactoglobuline chez la souris et étude de leurs mécanismes d'action. Thèse université Laval Québec.
- ✚ 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

Q

- ✚ Quasem, J.M., Mazahreh, A.S., Abdullah, I., Amer AL omari, A.,(2009). Solubility of solar dried jameed. *Pakistan Journal of Nutrition*, **2**(8): 134-138

R

- ✚ Rahali, V. and Menard, J.L. (1991). Influence des variants génétiques de la B-lactoglobuline et de la k-caséine sur la composition du lait et son aptitude fromagère. *Lait*, **71**: 275–297.
- ✚ Randazzo, C.L., Caggia, C. and Neviani, C.L.E. (2009). Application of molecular approaches to study lactic acid bacteria in artisanal cheeses. *J. Microbiol. Methods*, **78**: 1–9
- ✚ Robertson, A., Tirado, C., Lobstein, T., Jermini, M., Knai, C., Jensen, J. H., Ferro-Luzzi, A., and James, W. P. (2004) Food and health in Europe: a new basis for action. *WHO Reg Publ Eur Ser: i-xvi*, 1-385, back cover.
- ✚ Rodrigues et al. (2002). In Boudjani, W. (2009). Action de la flore lactique sur les bactéries contamination. Mémoire d'ingénieur, Institut de biologie, Université de Tlemcen. Pages 73.
- ✚ Ross, R. P., Morgan, S., and Hill, C. (2002) Preservation and fermentation: past, present and future. *Int J Food Microbiol*.**79**: 3-16.

S

- ✚ 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.
- ✚ Savadogo, A., Ouattara1, C.A.T., Savadogo, P.W., Ouattara1, A.S., Barro, N. and Traore, A.S. (2004). Microorganisms Involved in Fulani Traditional Fermented Milk in Burkina Faso. *Pakistan Journal of Nutrition*, **3** (2): 134-139.
- ✚ Shan-na, L., Han, Y., Zhi-jiang, Z. (2011). Lactic acid bacteria in traditional fermented Chinese foods. *Food Research International*, **44**: 643–651
- ✚ Siegumfeldt, H., Rechinger, KB., Jakobsen, M., (2000). Dynamic changes of intracellular Ph in individual lactic acid bacterium cells in response to a rapid drop in extracellular pH. *Appl Environ Microbiol*, **66**: 2330-2335.
- ✚ Singleton, P. (1999). Bactériologie. 4^{eme} Edition. Dunod, Paris. 317 pages.
- ✚ 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.
- ✚ Steijns, J. N. (2008). Dairy products and health: Focus on their constituents or on the matrix? *Int. Dairy*, **18**: 425–435.

T

- ✚ Tagg et al. (1976). In Boudjani, W. (2009). Action de la flore lactique sur les bactéries contamination. Mémoire d'ingénieur, Institut de biologie, Université de Tlemcen. 73 pages.
- ✚ Takahiro, M., Nobuhiko, K. and Toshinao, G. (2007). Milk consumption does not affect body mass index but may have an unfavorable effect on serum total cholesterol in Japanese adults. *Nutr. Res*, **27**: 395–399.
- ✚ Tolle, A. (1980). The microflora of the udder. *Bull. Int. Dairy Fed*, **120**: 4–10.
- ✚ Touré, R., Kheadr, E., Lacroix, C., Moroni, O. and Fliss, I. (2003). Production of antibacterial substances by bifidobacterial isolates from infant stool active against *Listeria monocytogenes*. *J. Appl. Microbiol*, **95**: 1058 – 1069.

U

- ✚ Auldlist, M.J., Walsh, B.J. and Thomson, N.A. (1998). Seasonal and lactational influences on bovine milk composition in New Zealand. *J. Dairy Res*, **65**: 401–411.

V

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

W

- ✚ Wouters, J.T.M., Ayad, E.H.E., Hugenholtz, J. and Smit, G. (2002). Microbes from raw milk for fermented dairy products. *Int. Dairy J*, **12**: 91–109.

Z

- ✚ Zalacain, I., Zapelena, M.J., Astiasaran, I., Bello, J. (1996). addition of lipase from *Candida cylindracea* to a traditional formulation of a dry fermented sausage. *meat science*, **42**: 155-163.

Site internet

- ✚ <http://www.edshare.soton.ac.uk/5310/>

Annexes

Annexe I : procédé de fabrication du Jben

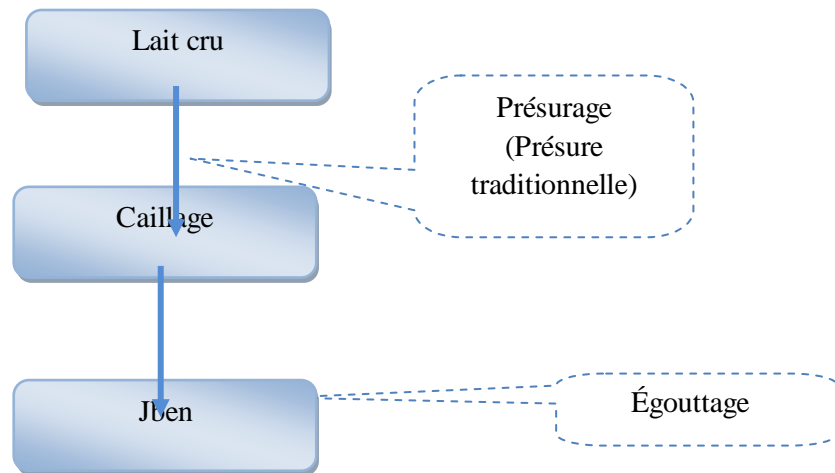


Figure 09: Préparation d'un produit laitier traditionnel

Procédé de fabrication du Jben.

Annexe II : Composition des solutions de titrage

- **Solution de NaOH 0,1N :**

Eau distillé1l
NaOH40g

- **solution de HCL 1n**

Eau distilé100ml
HCL.....4ml

- **KOH 0.5N**

Eau distilé100ml
KOH.....2.8g

- **KOH 0.1N**

Eau distilé100ml
KOH.....0.56g

Annexe III : Composition des diluants (g/l)

- **Eau physiologique peptonée**

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

- **Eau physiologie 9 /ml:**

NaCl9g
Eau distillée 1000 m

Annexe IV : Composition des milieux de cultures (g/l)

➤ Milieux solides

• Gélose nutritive standard Plate Count Agar (P.C.A)

Hydrolysats tryptique de caséine	2,5g
Extrait de viande	5g
Glucose	1g
Extrait de la levure	2,5g
Agar	15g
Eau distillé q.s.p	1000 ml
pH=7±0.2 à 37°C	

• 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 ₂ PO ₄	2g
MgSO ₄	0.1 g
MnSO ₄	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 M-17

Extrait de levure	2, 5g
Extrait de viande	5g
Peptone de caséine	2, 5g
Peptone de viande	2, 5g
Peptone de soja	5g
Peptone de soja	5g
Acide ascorbique	0, 5g
B-glycérophosphate de sodium	19g
Agar	12, 75g
Sulfate de magnésium	0.25g
Eau distillée q.s.p	1000 ml
pH=7.1±0.2 à 37°C	
Autoclavage : 121°C pendant 15min.	

• Mannitol-mobilité

Peptone tryptique de viande	20 g
Agar	4 g
Mannitol	2 g

KNO₃ 1 g
 Rouge de phénol à 1 %.....4 ml
 Eau distillée q.s.p..... 1000 ml
 pH=7.6-7.8

• **Gélose- Glucose – Lactose –Saccharose – H₂S(Ou milieu TSI)**

Extrait de viande de bœuf..... 3 g
 Extrait de levure 3 g
 Peptone20 g
 Chlorure de sodium..... 5 g
 Citrate ferrique0,3 g
 Thiosulfate de sodium.....0, 3 g
 Lactose 10 g
 Glucose 1 g
 Saccharose..... 10 g
 Rouge de phénol 0,05 g
 Agar 12 g
 Eau distillée q.s.p..... 1000 ml
 pH=7,4

• **Esculine**

Polypeptone10g
 Extrait de levure5g
 Acétate de sodium5g
 Tween 80 1 ml
 Mg SO₄0.05g
 Mn SO₄0.2 g
 Esculine5g
 Citrate de fer ammoniacal 0.5 g
 pH = 6.5

• **MRS Semi-solide**

Peptone 10,0 g
 Extrait de viande 8,0 g
 Extrait de levure 4,0 g
 Glucose 20,0 g
 Acétate de sodium tri hydraté 5,0 g
 Citrate d'ammonium 2,0 g
 Tween 80 1,0 ml
 Hydrogénophosphate de potassium 2,0 g
 Sulfate de magnésium heptahydraté 0,2 g
 Sulfate de manganèse tétra hydraté 0,05 g
 Agar 7,0 g
 pH = 6,2

➤ **Milieux liquides**

• **MRS -Bouillon**

Peptone	10g
Extrait de viande	8g
Extrait de levure	4g
Glucose	20g
Acétate de sodium trihydraté	5,0 g
Citrate d'ammonium	2,0 g
Tween 80	1,0 ml
Hydrogénophosphate de potassium	2,0 g
Sulfate de magnésium heptahydraté	0,2 g
Sulfate de manganèse tétrahydraté	0,05 g

pH = 6.2

• **BHIB**

Brain infusion solids	12,5g
Beef heart infusion solids	5,0g
Proteose peptone.....	10,0
Glucose	2,0g
Sodium chloride.....	5,0g
Disodium phosphate.....	2,5g

pH 7.4 ± 0.2 / 25°C

• **Clark et Lubs**

Peptone tryptique ou poly peptone	5 – 7 g
Glucose	5 g
Phosphate dipotassique	5 g
Eau distillée q.s.p.....	1000 ml

pH =7

• **Urée –Indole**

L-tryptophane	3 g
KH ₂ PO ₄	1 g
K ₂ PO ₄	1 g
NaCl	5 g
Urée	20 g
Alcool à 95°	10 ml
Rouge de phénol à 1%	2,5 ml
Eau distillée q.s.p.....	1000 ml

• **Milieu API 50 CHL**

Polypeptone.....	10g
Extrait de leueur	50g
Tween 80	1 ml
K ₂ HPO ₄	29g

Acétate de sodium	5g
Citrate diamoniaque	2 g
Sulfate de magnésium	0.20 g
Sulfate de manganèse	0.05 g
Bromocrésol Pourpre	0.17 g

Tableau 14: La composition de la galerie API 50 CH est reportée dans la liste des tests

Bande 0 - 9

Tube	Test	Composants actifs	QTE (mg/cup.)
0		TEMOIN	-
1	GLY	GLYcérol	1,64
2	ERY	ERYthritol	1,44
3	DARA	D-ARAbinose	1,4
4	LARA	L-ARAbinose	1,4
5	RIB	D-RIBose	1,4
6	DXYL	D-XYLose	1,4
7	LXYL	L-XYLose	1,4
8	ADO	D-ADOnitol	1,36
9	MDX	Méthyl- βD-Xylopyranoside	1,28

Bande 10 - 19

Tube	Test	Composants actifs	QTE (mg/cup.)
10	GAL	D-GALactose	1,4
11	GLU	D-GLUcose	1,56
12	FRU	D-FRUctose	1,4
13	MNE	D-MaNnosE	1,4
14	SBE	L-SorBosE	1,4
15	RHA	L-RHAMnose	1,36
16	DUL	DULcitol	1,36
17	INO	INOsitol	1,4
18	MAN	D-MANnitol	1,36
19	SOR	D-SORbitol	1,36

Bande 20 - 29

Tube	Test	Composants actifs	QTE (mg/cup.)
20	MDM	Méthyl-αD-Mannopyranoside	1,28
21	MDG	Méthyl-αD-Glucopyranoside	1,28
22	NAG	N-AcétylGlucosamine	1,28
23	AMY	AMYgdaline	1,08
24	ARB	ARButine	1,08
25	ESC	ESCuline citrate de fer	1,16 0,152

26	SAL	SALicine	1,04
27	CEL	D-CELLobiose	1,32
28	MAL	D-MALtose	1,4
29	LAC	D-LACTose (origine bovine)	1,4

☐ Bande 30 - 39

Tube	Test	Composants actifs	QTE (mg/cup.)
30	MEL	D-MELibiose	1,32
31	SAC	D-SACcharose	1,32
32	TRE	D-TREhalose	1,32
33	INU	INUline	1,28
34	MLZ	D-MéLéZitose	1,32
35	RAF	D-RAFFinose	1,56
36	AMD	AmiDon	1,28
37	GLYG	GLYcoGène	1,28
38	XLT	XyLiTol	1,4
39	GEN	GENtiobiose	0,5

☐ Bande 40 - 49

Tube	Test	Composants actifs	QTE (mg/cup.)
40	TUR	D-TURanose	1,32
41	LYX	D-LYXose	1,4
42	TAG	D-TAGatose	1,4
43	DFUC	D-FUCose	1,28
44	LFUC	L-FUCose	1,28
45	DARL	D-ARabitoL	1,4
46	LARL	L-ARabitoL	1,4
47	GNT	potassium GlucoNaTe	1,84
48	2KG	potassium 2-CétoGluconate	2,12
49	5KG	potassium 5-CétoGluconate	1,8

➤ Les colorants

• Violet de gentiane au cristal

Violet de gentiane 10g (ou 5g)

Phénol 20g

Ethanol à 0.95 100 cm³

Eau distillée 1 dm³

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

Flacon brun

- **Fuchsine de Ziehl**

Fuchsine bosique 10g
Phénol 50g
Ethanol à 0.5..... 10cm³
Eau distillée 1dm³

Annexe V : Tableaux des Résultats

Tableau 15: pH de l'échantillon

Echantillon	pH1	pH2	pH3	Moyenne
Jben	5.45	5.36	5.49	5.43

Tableau 16 : Acidité de l'échantillon

Echantillon	Acidité D°
Jben	45

Tableau 17 : Mesure de la matière sèche

Echantillon	M (g)	m (g)	E (g)	Matière sèche (MS)
Jben	41 ,31	38,52	5	0,558 g (55,8 %)

Tableau 18 : Mesure de l'humidité du produit

Echantillon	m (g)	MS (g)	Humidité du produit (X)
Jben	5	0,558	7,96 kg / 0,79 %

Tableau 19 : Mesure de la diffusibilité du produit

Echantillon	Ea1 (%)	Ea2 (%)	Moyenne (%)
Jben	40	60	50

Tableau 20:Dénombrement des bactéries lactiques à 30°C.

Echantillon	MRS	M17
Jben	55,5×10 ⁸ UFC/g	42,45×10 ⁸ UFC/g

Tableau 21:Dénombrement des bactéries lactiques à 45°C.

Echantillon	MRS	M17
Jben	1,9 ×108 UFC/g	4,6 ×108 UFC/g

Tableau 22: Dénombrement de la flore mésophile totale à 30°C.

Echantillons	charge
Jben	1 ,88 ×106 UFC/g

Tableau 23: Diamètre de la zone d'inhibition (en mm).

<i>Souche</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Micrococcus luteus</i>
S1	8	13	12	20	12	15
S2	15	15	14	14	16	18
S3	15	12	33	8	13	11
S4	14	20	12	50	30	24
S5	11	30	26	12	24	28
S6	0	0	0	0	0	0
S7	16	0	12	6	0	0
S8	20	12	20	9	10	14
S9	12	0	10	8	9	8
S10	0	0	0	0	6	5
S11	0	0	0	0	0	0
S12	12	9	6	8	38	20
S13	8	18	17	9	8	9
S14	20	20	12	6	14	30
S15	8	9	5	22	24	30
S16	22	14	15	6	12	20
S17	12	6	11	9	10	11
S18	0	0	0	0	0	0
S19	0	0	0	0	0	0
S20	0	0	0	0	0	0
S21	0	0	0	0	0	0
S22	0	0	0	0	0	0
S23	0	0	0	0	0	0
S24	0	0	0	0	0	0
S25	5	18	18	2	1	2

Tableau 24: Résultats d'identification des souches (S₄ et S₁₅) par galerie API 50 CH

Tube	Test	Souche S4	Souche S15
0		-	-
1	GLY	-	-
2	ERY	-	-
3	DARA	-	-
4	LARA	-	-
5	RIB	+	+
6	DXYL	-	+
7	LXYL	-	-
8	ADO	-	-
9	MDX	-	-
10	GAL	+	+
11	GLU	+	+
12	FRU	+	+
13	MNE	+	+
14	SBE	-	-
15	RHA	-	-
16	DUL	-	-
17	INO	-	-
18	MAN	-	+
19	SOR	-	-
20	MDM	-	-
21	MDG	-	-
22	NAG	+	+
23	AMY	-	+
24	ARB	+	+
25	ESC	+	+
26	SAL	+	+
27	CEL	+	+
28	MAL	+	+
29	LAC	+	+
30	MEL	-	-
31	SAC	-	+
32	TRE	+	+
33	INU	-	-
34	MLZ	-	-
35	RAF	-	-
36	AMD	+	+
37	GLYG	-	-
38	XLT	-	-
39	GEN	+	+
40	TUR	-	-

41	LYX	-	-
42	TAG	-	-
43	DFUC	-	-
44	LFUC	-	-
45	DARL	-	-
46	LARL	-	-
47	GNT	-	+
48	2KG	-	-
49	5KG	-	-

ملخص

في الجزائر يعتبر الجبن منتج لبنى تقليدي حيث يتم استهلاكه إما في حالته أو يمكن تناوله جافا وبذلك يمكن حفظه لمدة أطول. يحتوي الجبن على مجموعة متنوعة من البكتيريا تنتج هذه البكتيريا عدة مركبات تعمل على تثبيط الميكروبات الضارة مشكلة بذلك خطا دفاعيا هاما مثل الأحماض العضوية الماء المهرج و البكتيريوسينات. بينت التحاليل الفيزيائية والكيميائية أن الخصائص التي تم تحليلها هي في المعايير المقبولة. تم عزل خمسة وعشرين سلالات من بكتيريا حمض اللبنيك على الأوساط M17 و MRS في درجات حرارة 30°م و 45°م، حيث تم تحديد السلالات تبعا للخصائص المرفولوجية و الفيزيولوجية والبيوكيميائية إلى الأجناس: *Lactococcus* (2 سلالة) *Enterococcus* (1 سلالة) *Lactobacillus* (11 سلالة) *Leuconostoc* (5 سلالات) *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* كما تم اختبار قدرة السلالات المعزولة على تثبيط نمو ستة بكتيريا ممرضة *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus luteus* و ذلك بقياس قطر التثبيط تبين من هذا الاختبار أن القطر تراوح ما بين 1 و 50 ملم. من بين 25 معزولة اثنان (*S₄* et *S₁₅*) لها قدرة عالية على تثبيط نمو البكتيريا الضارة وتم التعرف عليها بواسطة API 50 CH كأصناف *Lactococcus lactis* يمكن للمنتجات اللبنية التقليدية أن تكون مصدرا لسلالات ميكروبية جديدة مضادة للميكروبات الممرضة

الكلمات المفتاحية: الجبن، التحاليل الفيزيوكيميائية، بكتيريا لبنية، بكتيريا ممرضة، التضاد

Résumé

En Algérie, le Jben, le produit laitier traditionnel, est consommé soit tel qu'il est, ou après un séchage afin de prolonger sa durée de conservation. Il contient une microflore variée qui constitue une ligne de défense par la production d'acide lactique, de peroxyde d'hydrogène et de bactériocines.

Les analyses physico-chimiques ont montré que les propriétés analysées sont dans les normes.

Vingt cinq souches de bactéries lactiques ont été isolées sur les milieux M17 et MRS à des températures d'incubation de 30°C et 45°C. Les souches ont pu être identifiées aux genres : *Lactococcus* (5 souches), *Leuconostoc* (11 souches) et *Lactobacillus* (une souche). *Enterococcus* (2 souches)

Les diamètres des zones d'inhibition de six bactéries pathogènes *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Micrococcus luteus* varient entre 1 et 50 mm. Deux souches (*S₄* et *S₁₅*) dont le pouvoir antimicrobien est élevé, appartiennent à l'espèce *Lactococcus lactis* d'après l'identification par les galeries API 50 CH.

Les produits laitiers traditionnels constituent une source de nouvelles souches antimicrobiennes.

Mots clés : Jben, Analyses physicochimiques, Bactéries lactiques, Bactéries pathogènes, Antagonisme.

Abstract

In Algeria, the Jben is consumed is such that it is, or after drying in order to prolong its shelf life. It contains a diverse microflora which constitutes a line of defense by the production of lactic acid, hydrogen peroxide and bacteriocins. it contains the mesophilic flora total and the lactic flora of this product traditional dairy have been carried out.

The physico-chemical analyzes showed that the properties are analyzed in the standards

25 strains of lactic bacteria have been isolated on the circles M17, SRMS at temperatures of incubation of 30°C and 45°C and the strains could be identified to genera: *Lactococcus* (5 strains), *Leuconostoc* (11 strains) et *Lactobacillus* (one strain). *Enterococcus* (2 strains)

The diameters of the zones of inhibition of six pathogenic bacteria *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Micrococcus lutes* vary between 1 and 50 mm Two strains have a high activity compared with other strains isolated (*S₄* and *S₁₅*).

Traditional products is a source of new microbial strains.

Words keys: Jben, physicochemical analysis, lactic bacteria, pathogenic bacteria, antagonism.

