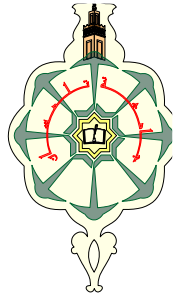


République Algérienne Démocratique et populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen



Faculté des Sciences de la Nature et de la vie  
Et science de la Terre et de l'Univers  
Département de Biologie

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

*En vu de l'obtention du diplôme de Master en Biologie*

*Option : Sciences des aliments*

Présenté Par

M<sup>lle</sup> Abdelmoumene Wafae

Thème

**Etude de l'activité antimicrobienne des souches de bactéries lactiques isolées de produits laitiers traditionnels Algériens (Zebda, Lben et Dhan).**

*Soutenu le : 02/07/ 2015*

Devant le jury composé de :

M. ABDELOUAHID D. E.	Professeur à l'Université de Tlemcen	Président
M. LAZOUNI H. A.	Maître de Conférences A à l'Université de Tlemcen	Examineur
M <sup>me</sup> . BELYAGOUBI N.	Maître de Conférences A à l'Université de Tlemcen	Examinatrice
M. BELYAGOUBI L.	Maître de Conférences B à l'Université de Tlemcen	Promoteur

**Année Universitaire : 2014-2015.**

## *Dédicace*

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; **maman** que j'adore.*

*A la mémoire de **mon père**. (rabi yarhmo).*

*A mes **frères** et **sœurs**; pour votre soutien et encouragements, vous occupez une place particulière dans mon cœur. Je vous dédie ce travail en vous souhaitant un avenir radieux, plein de bonheur et de succès.*

*Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagnés durant mon chemin d'études mes proches amis **Zoukha** et **Samira**.*



## **Remerciements**

*On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.*

*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.*

*Mes vifs remerciements à tous les membres de jury pour avoir accepté de juger ce travail :*

*Je remercie Mr **Abdelouahid** qui a accepté de présider ce jury dont je lui exprime ma haute considération*

*Mes sincères remerciements vont à **Madame Belyagoubi Née Benhammou N.**, d'avoir accepté d'examiner ce travail et je lui exprime ma profonde reconnaissance pour son aide précieuse.*

*Je remercie également Mr **Lazouni** d'avoir acceptée d'examiner ce travail dont je lui exprime ma haute considération et respect.*

*Je tiens ensuite à remercier Monsieur **Habi Salim** pour son aide technique, sa gentillesse et sa grande disponibilité et confiance.*

*Je remercie aussi l'ensemble du personnel travaillant au laboratoire du département de Biologie Université de Tlemcen. Qui ont contribués pour mener à bien ce travail*

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

*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، كما هو الحال في العديد من الدول الأخرى في جميع أنحاء العالم نجد منتجات ألبان أصلية حيث عملية التصنيع تنبع من التراث الثقافي للسكان. هذه المواد ناتجة عن تحويل الحليب من أجل إطالة مدة صلاحيته من بين هذه الألبان التقليدية الجزائرية: الزبدة، اللبن، الدهان التي يمكن أن تكون مصادر بكتيريا لبنية ذات النشاط المثبط للسلالات الممرضة. وبذلك تشكل خطا دفاعيا من خلال إنتاج حامض اللبنيك، وبيروكسيد الهيدروجين و *bactériocines*. تم إحصاء و عد كل الميكروبات الموجودة في منتجات الألبان التقليدية في الأوساط التالية: PCA ، M17، MRS (5.6, 6.2). في درجات حرارة الحضانة 30 و 45 درجة مئوية. تم عزل 17 سلالة بكتيريا لبنية. وقد تم تحديد هذه السلالات لأجناس: *Lactobacillus* (5 سلالات) ، *Enterococcus* (4 سلالات) ، *Lactococcus* (1 سلالة) ، *Streptococcus* (7 سلالات). وقد أدت تفاعلاتها مع ثمانية سلالات مسببة للأمراض:

*(Escherichia coli, Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Micrococcus lutus*

*Bacillus cereus, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Candida albicans).*

إلى ظهور مناطق تثبيط كبيرة بقطر تراوح ما بين 5 ملم و 40 ملم، وبعض السلالات تنشط جدا ضد البكتيريا المسببة للأمراض مقارنة مع السلالات الأخرى (S3، S4، S5، S7، S13، S15).

**الكلمات المفتاحية:** منتجات الألبان التقليدية، الزبدة، اللبن، الدهان، البكتيريا اللبنيّة، التضاد، البكتيريا الممرضة.

## ***Résumé***

En Algérie, comme dans les différents autres pays du monde on retrouve des produits laitiers indigènes dont le mode de fabrication découle de l'héritage culturel de la population .

Ces produits sont issus de la transformation de lait dans le but de prolonger sa durée de conservation .Parmi les préparations lactières traditionnelles algériennes : Zebda ,Lben ,Dhan qui peuvent être des sources de bactéries lactiques qui ont des activités inhibitrices vis-à-vis des germes pathogènes. Donc elles constituent une ligne de défense par la production d'acide lactique, de peroxyde d'hydrogène et de bactériocines.

Des dénombrements de la flore mésophile totale et la flore lactique des produits laitiers traditionnels ont été effectués.

17 souches de bactéries lactiques ont été isolées sur les milieux M17, MRS<sub>5,6</sub> et MRS<sub>6,2</sub> à des températures d'incubation de 30°C et 45°C. Ces souches ont pu être identifiées aux genres : *Lactobacillus* (5 souches), *Enterococcus* (4 souches), *Lactococcus* (1 souche), *Streptococcus* (7 souches).

Les diamètres des zones d'inhibition des bactéries lactiques vis à vis huit souches pathogènes :

(*Micrococcus luteus* ,*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* , *Bacillus cereus* , *Escherichia coli* , *Pseudomonas aeruginosa* , *Klebsiella pneumoniae* , *Candida albicans*), varient entre 5 mm et 40 mm, quelques souches sont fortement actives sur les souches pathogènes par rapport aux autres souches isolées (S3, S4, S5 ,S7, S13, S15 ).

**Mots clés :** Produits laitiers traditionnels, Zebda, Lben, Dhan, Les bactéries lactiques Antagonisme, Bactéries pathogènes.

## ***Abstract***

In Algeria, as in various other countries around the world include indigenous dairy products whose manufacturing process stems from the cultural heritage of the population.

These products are the issue of milk processing in order to prolong its period life .Among the Algerian traditional dairy preparations: Zebda, Lben, Dhan that can be sources of lactic acid bacteria inhibitory activity vis-à-vis pathogens. Therefore they constitute a line of defense by the production of lactic acid, hydrogen peroxide and bacteriocins.

Counts of the total mesophilic lactic flora and fauna of traditional dairy products were made.

17 lactic acid bacteria strains were isolated from the M17 media, MRS5.6 and MRS6,2 at incubation temperatures of 30 °C and 45 °C. These strains were identified to genera: ***Lactobacillus*** (5 strains), ***Enterococcus*** (4 strains), ***Lactococcus*** (1 strain), ***Streptococcus*** (7 strains).

The diameters of the inhibition zones of the eight pathogenic strains

***(Micrococcus luteus, Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes, Bacillus cereus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae, Candida albicans)***

Vary between 5 mm and 40 mm, some Lactic acid bacteria are highly active against pathogenic strains compared to other Lactic acid bacteria (S3, S4, S5, S7, S13, and S15).

**Keywords:** Traditional dairy products, Zebda, Lben, Dhan, Lactic acid bacteria, Antagonism, Pathogenic bacteria.

# Sommaire

	Page
Dédicace.....	I
Remerciements .....	II
ملخص .....	III
Résumé .....	IV
Abstract.....	V
Sommaire .....	VI
Liste des tableaux .....	X
Liste des figures .....	XI
Liste des photos.....	XII
Liste des abréviations.....	XIII
<b>Introduction.....</b>	
<b>Synthèse bibliographique.....</b>	
<b>Chapitre I : Lait et produits laitiers .....</b>	<b>2</b>
I.1. Lait .....	2
I.1.1- Définition .....	2
I.1.2 Composition du lait .....	2
I.1.3- Caractéristiques physiques et chimiques du lait .....	2
I.1.4- La microflore du lait .....	3
I.1.4.1- Flore originale .....	3
I.1.4.2- Flore pathogène .....	3
I.1.4.3- Flore psychrotrophe.....	3
I.2- les produits laitiers traditionnels .....	4
I.2.1- Rayeb .....	4
I.2.2- Bouhezza .....	5
I.2.3- Takammarit .....	5
I.2.4- Lghaunane .....	5
I.2.5- Klila .....	5
I.2.5.1- La composition chimique du Klila .....	6

I.2.6- Jben .....	6
I.2.6.1- <i>Préparation de fromage frais</i> .....	6
I.2.6.2- <i>Caractéristiques physiques et chimiques du Jben</i> .....	7
I.2.7- Lben .....	7
I.2.8- Dhan .....	8
I.2.9- La crème, la Zebda ou beurre frais .....	8
<b>Chapitre II : Les bactéries lactiques</b> .....	10
II.1- Définition .....	10
II. 2-Classification .....	10
II.2.1-Le genre <i>Lactobacillus</i> .....	11
II.2.2- Le genre <i>Streptococcus</i> .....	11
II. 2.3- Le genre <i>Lactococcus</i> .....	12
II. 2.4- Le genre <i>Leuconostoc</i> .....	12
II. 2.5- Le genre <i>Bifidobacterium</i> .....	12
II.3- Intérêts technologiques des bactéries lactiques .....	13
II. 3.1- <i>Activité acidifiante (production d'acide lactique)</i> .....	13
II ..3 .2- <i>Activité protéolytique</i> .....	13
II. 3.3- <i>Pouvoir aromatisant et pouvoir gazeux</i> .....	14
II.3.4- <i>Activité bactériostatique (production de bactériocines)</i> .....	14
II. 3.5- <i>Propriété probiotique</i> .....	14
II.3.5.1-Les bactéries probiotiques.....	14
II.3.5.2- Rôle d'un probiotique ....	15
<b>Chapitre III : Substances antimicrobiennes</b> .....	16
III. Substances antimicrobiennes.....	16
III.1- Les acides organiques.....	16
III.2- Peroxyde d'hydrogène .....	16
III.3- Les bactériocines .....	16
III.3.1- Classification des bactériocines .....	17
III.3.1.1 lantibiotique .....	17
III.3.1.2 Peptides non modifiés .....	18
III.3.1.3 Protéines .....	18
III.3.2- Mécanisme d'action .....	18



## **Matériels et méthodes.....**

1 .Echantillonnage .....	19
2. Procédé de fabrication des échantillons .....	20
3. Mesure de pH .....	21
4.Dénombrement de la flore mésophile totale .....	21
5. Isolement des bactéries lactiques .....	21
6. Mode de calcul .....	22
7. Conservation des souches.....	22
8. Identification des bactéries lactiques .....	22
8. 1. Tests morphologiques .....	23
8.1.1- Coloration de Gram .....	23
8.1.2- Test état frais .....	23
8.2. Test biochimiques .....	23
8.2.1- Test catalase .....	24
8.2.2-Test d'oxydase .....	24
8.2.3-Milieu Urée-Indole .....	24
8.2.4- Milieu Clark et Lubs.....	24
8.2.5- Milieu Mannitol-mobilité .....	24
8.2.6- Gélose TSI (Glucose-Lactose-Saccharose-H <sub>2</sub> S) .....	24
8.2.7- Milieu Citrate .....	25
8.2.8- Effet de NaCl, de temperature et du pH .....	25
8.2.9- Thermorésistance .....	25
8.2.10- Galerie API 20 E .....	25
9. Interactions bactériennes .....	26
9.1-Méthode d'inhibition bactérienne en gélose superposée (double gélose) .....	27
9.2-Recherche de substances inhibitrices de nature protéique .....	27

## **Résultats, interprétations et discussion.....**

1. pH des échantillons .....	29
2. Dénombrement de la flore mésophile totale .....	30
3. Isolement des bactéries lactiques .....	31
4. Identification des souches .....	34
4.1- Examen macroscopique .....	34
4.2- Examen microscopique .....	36

4.3- Tests de température, pH, NaCl et Thermorésistance .....	37
4.4- Tests biochimiques classiques.....	39
4.5-Résultats Galerie API 20E (bio Mérieux) .....	40
5. Résultats des tests antimicrobiens .....	43
5.1. Résultats d'antagonisme bactéries lactiques/bactéries pathogènes.....	43
5.1.1- Antagonisme bactéries lactiques/ <i>Micrococcus luteus</i> .....	43
5.1.2-Antagonisme bactéries lactiques/ <i>Staphylococcus aureus</i> .....	43
5.1.3-Antagonisme bactéries lactiques/ <i>Listeria monocytogenes</i> .....	44
5.1.4-Antagonisme bactéries lactiques/ <i>Bacillus cereus</i> .....	45
5.1.5-Antagonisme bactéries lactiques/ <i>Escherichia coli</i> .....	45
5.1.6-Antagonisme bactéries lactiques/ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	46
5.1.7-Antagonisme gonisme bactéries lactiques/ <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	47
5.1.8-Antagonisme bactéries lactiques/ <i>Candida albicans</i> .....	47
5.2. Recherche des substances inhibitrices de nature protéique .....	49

**Conclusion**.....

**Références bibliographiques**.....

**Annexe**.....

## *Liste des tableaux*

	<b>Page</b>
<b>Tableau 01</b> : Composition du lait chez divers mammifères.....	2
<b>Tableau 02</b> : Flore microbienne du lait .....	4
<b>Tableau 03</b> : Caractéristiques physico-chimiques du Lben artisanal (g/l).....	8
<b>Tableau 04</b> : Classification des bactériocines de bactéries lactiques .....	13
<b>Tableau 05</b> Classification des bactériocines de bactéries lactiques.....	17
<b>Tableau 06</b> : Bactériocines de classe III produites par des bactéries lactiques.....	18
<b>Tableau 07</b> : Caractéristiques des échantillons prélevés .....	19
<b>Tableau 08</b> : Origines des souches pathogènes utilisé.....	26
<b>Tableau 09</b> : aspects macroscopiques et milieu d'isolements des souches.....	35
<b>Tableau 10</b> : résultats des tests coloration de Gram, catalase, oxydase et observation microscopique.....	36
<b>Tableau 11</b> : Tests de température, pH, NaCl et Thermorésistance.....	37
<b>Tableau 12</b> : Résultats des tests biochimiques classiques d'identification des souches isolées.....	39
<b>Tableau 13</b> : Résultats de la plaque API20 des bactéries lactiques isolées des produits laitiers traditionnels algériens .....	41

## *Liste des figures*

	<b>Page</b>
<b>Figure 01</b> : Schéma de fabrication des produits laitiers traditionnels.....	9
<b>Figure 02</b> : procédé de fabrication de beurre et Lben. ....	20
<b>Figure 03</b> : pH des trois échantillons (Zebda, Lben, Dhan). ....	29
<b>Figure 04</b> : Dénombrement de la flore mésophile totale à 30°C. ....	30
<b>Figure 05</b> : Dénombrement des bactéries lactiques à 30°C. ....	31
<b>Figure 06</b> : Dénombrement des bactéries lactiques à 45°C. ....	32
<b>Figure 07</b> Résultats des interactions entre les souches de bactéries Lactiques et <i>Micrococcus luteus</i> .....	43
<b>Figure 08</b> : Résultats des interactions entre les souches de bactéries Lactiques et <i>Staphylococcus aureus</i> .....	43
<b>Figure 09</b> : Résultats des interactions entre les souches de bactéries Lactiques et / <i>Listeria</i> <i>monocytogenes</i> .....	44
<b>Figure 10</b> : Résultats des interactions entre les souches de bactéries Lactiques et / <i>Bacillus</i> <i>cereus</i> .....	45
<b>Figure 11</b> : Résultats des interactions entre les souches de bactéries Lactiques et / <i>Escherichia coli</i> .....	45
<b>Figure 12</b> : Résultats des interactions entre les souches de bactéries Lactiques et / <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	46
<b>Figure 13</b> : Résultats des interactions entre les souches de bactéries Lactiques et / <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	47
<b>Figure 14</b> : Résultats des interactions entre les souches de bactéries Lactiques et / <i>Candida</i> <i>albicans</i> .....	47

## *Liste des photos*

	<b>Page</b>
<b>Photo 01:</b> produits laitiers traditionnels: <b>1</b> « Zebda Djelfa », <b>2</b> « Lben Tlemcen », <b>3</b> « Dhan ElBayad ».....	20
<b>Photo 02 :</b> Dénombrement de la flore mésophile totale sur le milieu P.C.A à 30°C....	31
<b>Photo 03 :</b> Dénombrement de la flore lactique sur le milieu ;(A) : MRS, (B) : M17 .....	33
<b>Photo 04 :</b> (A) : coloration de Gram, (B) : état frais .....	36
<b>Photo 05 :</b> Tests de : Température, pH, NaCl et Thermorésistance ;(A) : absence d'une croissance, (B) : présence d'une croissance.....	38
<b>Photo 06 :</b> Tests biochimiques classiques ;(A) : milieu citrate de Simmons, (B) : milieu mannitol mobilité, (C) : milieu TSI.....	40
<b>Photos 07 :</b> Tests biochimiques de la plaque API 20E .....	41
<b>Photo 08. :</b> Activités antibactériennes des souches lactiques vis-à-vis ; (A) : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , (B) : <i>Micrococcus luteus</i> .....	48

## *Liste des abréviations*

<b>ATCC</b>	American Type Culture Collection
<b>°D:</b>	degré dornic
<b>DLC:</b>	Date Limite de Consommation
<b>DO:</b>	densité optique
<b>FAO:</b>	Food and Agriculture Organization
<b>K Da :</b>	Kilo Dalton
<b>MRS:</b>	Man–Rogosa–Sharpe
<b>OMS:</b>	Organisation mondiale de la santé
<b>P.C.A:</b>	Plate Count Agar
<b>pH:</b>	potentiel d'Hydrogène
<b>RM :</b>	rouge de méthyle
<b>S:</b>	Souche
<b>UFC :</b>	Unité Formant Colonie
<b>Vp:</b>	La réaction de Voges Proskauer

# *Introduction*

L'Algérie a une tradition des produits laitiers bien établie, transmise de génération en génération, qui a un aspect important de la culture algérienne. Le lait abondant durant certains moments de l'année, il est difficile de le conserver et facilement périssable, surtout dans les zones à climat chaud. Dans n'importe quelle culture, il a été toujours traité pour augmenter la durabilité et la valeur nutritive et en même temps permettre la commercialisation, les femmes algériennes comme toutes les cultures pastorales, ont toujours été les principales protagonistes auteurs de la transformation de lait. Cette transformation se fait par l'intermédiaire des bactéries lactiques (**Claps et Morone, 2011**).

Les bactéries lactiques présentent un grand intérêt dans l'industrie. Elles sont largement utilisées dans l'élaboration des produits alimentaires par des procédés de fermentations lactiques. Elles assurent non seulement des caractéristiques particulières d'arômes et de texture mais aussi une bonne sécurité alimentaire. Cette sécurité est favorisée grâce à la production des acides organiques (acides lactiques et acétiques), qui font baisser le pH dans le milieu, et par la synthèse de bactériocines qui renforcent cette conservation (**Bekhouche et Boulahrouf, 2005**).

En Algérie, le lait cru est transformé par des méthodes traditionnelles en lait fermenté (Lben), en (Zebda) ou en (Dhan) et autres produits laitiers. Ces produits retiennent leurs qualités désirables même après une longue conservation à température ambiante.

L'objectif de notre travail est d'isoler, purifier et identifier des souches de bactéries lactiques à partir des produits laitiers traditionnels à base de lait de vache (Zebda, Lben, et Dhan) de différentes régions algériennes, 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*

## **I.1. Lait**

### **I.1.1- Définition :**

C'est en 1909 que le Congrès International de la Répression des Fraudes a défini le lait comme étant : « le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum » (Larpent et al., 1997).

Le lait sans indication de l'espèce animale de provenance correspond au lait de vache (Larpent et al., 1997).

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

### **I.1.2- Composition du lait**

Le lait est un substrat très riche, fournissant à l'Homme et aux jeunes mammifères un aliment presque complet (Larpent, 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 sont : les lipides, les glucides, les protides, les vitamines et les éléments minéraux ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ) (Vimahieu, 2005).

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

<b>Composition moyenne du lait (g/l)</b>								
	Eau	Extrait sec	Matière grasse	Protéines			Glucide : lactose	Matières minérales
				totale	caséine	albumine		
<b>Equidés</b>								
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
<b>Ruminante</b>								
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.1.3- Caractéristiques physiques et chimiques du lait :**

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) (Dillon, 2008; Hebboul et al., 2005).

#### **I.1.4- Microflore du 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) (Larpent, 1997).

Dans des conditions de propreté et d'hygiène normale, le lait cru renferme de nombreux germes constituant la flore originale. Cette microflore est représentée essentiellement par des lactobacilles et des streptocoques lactiques commensaux provenant du pis et des canaux galactophores (Hermier et al., 1992).

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.1.4.1- Flore originale***

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

##### ***I.1.4.2- 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.1.4.3- Flore psychrotrophe***

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* est 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
<i>Lactobacilles</i> streptocoques lactiques	<i>Pseudomonas</i> , <i>Flavobacterium</i> Enterbacteries, Microcoques Corynébactéries, <i>Bacillus</i> Streptocoques faecalis <i>Clostridium</i>	<i>Clostridium</i> Coliformes fécaux <i>Salmonella</i> <i>Yersinia</i> <i>Campylobacter</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Brucella</i> <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 à conduit au développement des technologies de production traditionnelles (Dharam et Narender, 2007). Ces produits sont partie intégrante d'héritage algérien, et ont une grande importance, culturelle, médicinale et économique, ils ont été développé sur une longue période avec les compétences culinaires des femmes.

En plus de la conservation des solides du lait pour plus longtemps à température ambiante, la fabrication de produits laitiers traditionnels améliore la valeur alimentaire du lait.

Les produits laitiers traditionnels algériens importants qui ont la signification commerciale sont : Lben, Klila, Bouhezza , Jben, Rayeb , Dhan et Zebda , Takammarit et autres.

#### **I.2.1- Rayeb :**

Le Rayeb est un produit qui n'aura aucun traitement thermique préalable et laissé s'acidifier par fermentation spontanée jusqu'à l'obtention d'un caillé (Touati ,1990).

Il peut être consommé comme boisson après une simple homogénéisation, ou additionné aux autres plats traditionnels (couscous, mesfouf). Il entre dans la fabrication du Lben (Aissaoui. Z, 2004).

***1.2.2- Bouhezza :***

C'est un fromage fermier fermenté à égouttage spontané, préparé à l'origine à partir de lait de chèvre et éventuellement de brebis mais actuellement il est préparé à partir du lait de vache, il est très répondu dans l'est algérien plus précisément dans les régions de Oum Bouaghi, Khenchela, et dans certains régions de Batna (**Mekentichi, 2003**)

Le salage, l'égouttage et l'affinage du Bouhezza sont réalisés simultanément dans une «Chekoua», préalablement traitée aux tannins pendant 3 à 4 mois. Au stade de la consommation le fromage est pétri avec incorporation de poudre de piment rouge, ce qui lui donne une caractéristique particulière (**Lemouchi, 2008**).

***1.2.3- Takammarit :***

C'est un fromage de Hoggar, il est fabriqué par introduction d'un bout de caillette de jeunes chevreaux dans le lait. Après quelques heures, le caillé est retiré à l'aide d'une louche et déposé en petits tas sur une natte et sera ensuite pétri pour évacuer le sérum puis déposé dans une autre natte faite de tige de fenouil sauvage qui lui donne de l'arome. Les nattes sont ensuite placées à l'ombre jusqu'au durcissement du fromage.

Le fromage peut subir un affinage durant un mois (**Bousnane et Djadi, 2009**).

***1.2.4- Lghaunane :***

Fromage fabriquée en Kabylie à partir du colostrum, la préparation se fait dans des ustensiles en terre cuite enduits d'huile d'olive dans lesquels est versée une petite quantité d'eau salée, puis le lait est chauffé et coagulé. Le caillé formé est découpé puis consommé tel quel. (**Agroligne, 2001 in Lahsaoui, 2009**).

***1.2.5- Klila :***

C'est un fromage ferment produit empiriquement dans plusieurs régions de l'Algérie, il est fabriqué par un chauffage relativement modéré (55 à 75°C) du Lben jusqu'à ce qu'il est caille (10 à 15 min). Le caille est ensuite égoutté spontanément ou pressé 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 culinaires traditionnels (**Mennane et al., 2007**).

***1.2.5.1-La composition chimique du Klila :***

Elle varie considérablement entre les différentes régions, et surtout ce qui concerne la composition la Kila est très riche en protéines, et en matières grasse, avec un teneur d'eau

varié selon le mode de fabrication et un pH très bas se qui explique l'augmentation de l'acidité de cette produit (**Mennane et al, 2007**).

### **I.2.6- Jben :**

Selon la norme du Codex Alimentaire 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**).

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

#### **I.2.6.1- 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 01**): la maturation, la coagulation et l'égouttage (**Randazzo et al., 2002**).

### I.2.6.2- 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**).

### I.2.7- Lben :

Le Lben est fabriqué à partir de lait de vache, brebis et de chèvre .le lait subit une acidification spontanée par sa flore original jusqu'à coagulation .  
Le caillé obtenu est introduit dans la Chekoua ou le Zeer ou il subit une forte agitation ou barattage.

En Algérie, le Lben entre dans la fabrication de différents fromages traditionnels tels que Bouhezza et Klila.

La composition chimique du « Lben » est variable, elle dépend des localités, des régions, des fermes, de la composition chimique du lait cru de départ et de la procédure de fabrication (**El Baradei et al., 2008**). Néanmoins, certains indicateurs donnent une idée sur la qualité globale du produit et le processus de sa fabrication. La fermentation du lactose augmente l'acidité titrable dans le « Lben » a plus de 0.60 % d'acide lactique, par conséquent le pH et le lactose baissent respectivement au dessous de 4.7 et 3.7 g 100g<sup>-1</sup>. L'extraction du beurre diminue le contenu en lipides à environ 1.8 g.100 g<sup>-1</sup> (**Benkerroum et al., 1984**).

La fermentation du citrate dans le lait génère des composés carbonés volatiles (acétaldéhyde, acétoïne et diacétyl). On reporte aussi la présence d'éthanol dans le « Lben », c'est un élément qui confère un arôme typique au produit, pourtant, sa concentration est trop faible pour donner un goût alcoolique au produit.

Le tableau suivant montre la composition chimique de Lben.

**Tableau 03** : Caractéristiques physico-chimiques du Lben artisanal (g/l) (**Aissaoui Zitoun, 2004**).

Constituants	Protéine	Lipide	Chlorure	Acide lactique	Extrait sec
Teneurs (g/l)	3.44	9.14	1.6	82.6	90.2

#### ***1.2.8- Dhan :***

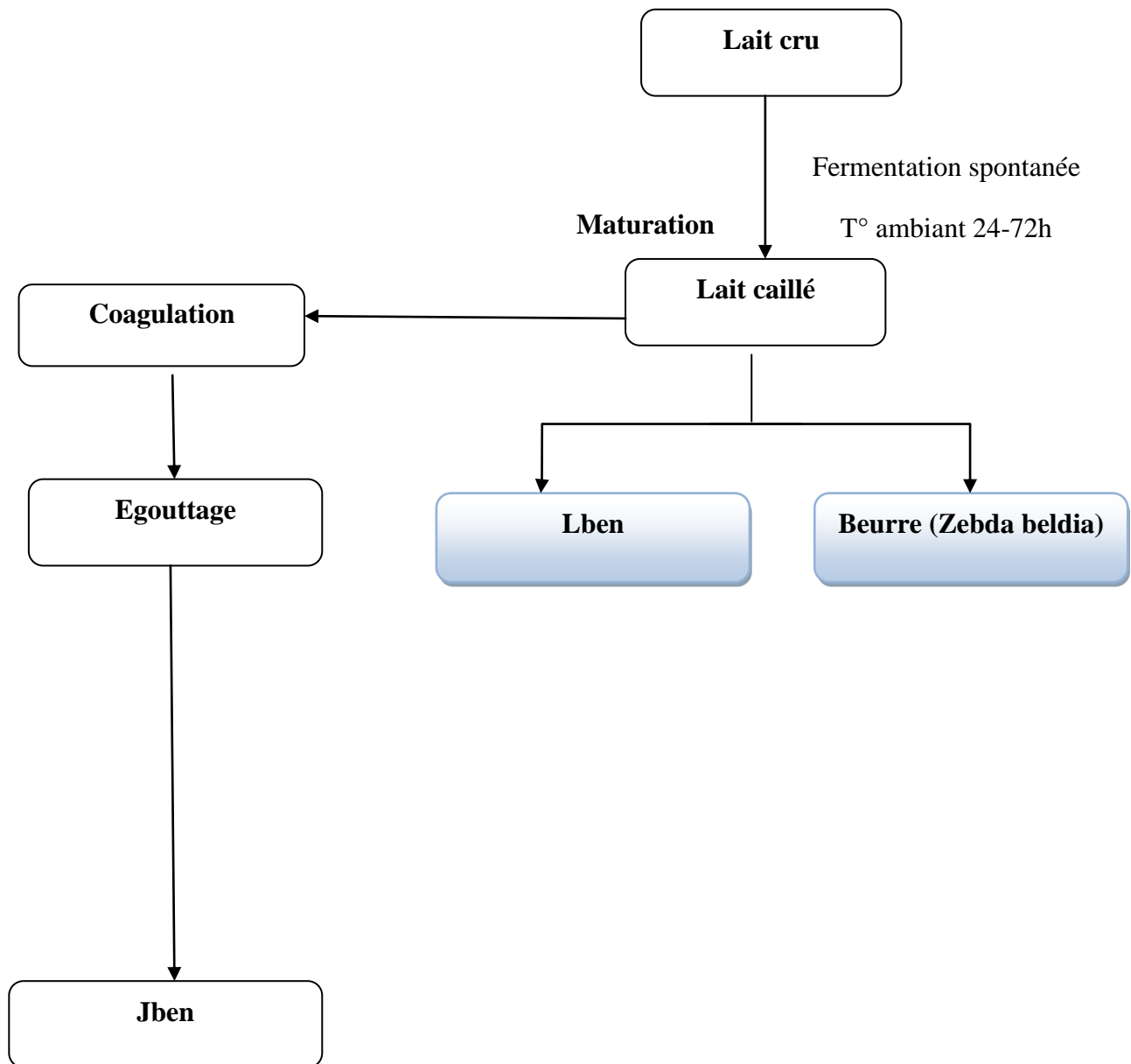
Un beurre traditionnel est fabriqué à partir du lait de vache non pasteurisé. Tout d'abord, le lait est laissé à température ambiante jusqu'à ce qu'il s'acidifie. Une agitation manuelle est utilisée dans une peau de chèvre jusqu'à la séparation de la crème au lait écrémé, pendant l'agitation d'une petite quantité d'eau fraîche est ajoutée. Cette eau permet de rassembler les globules gras. Cette agitation dure quelques dizaines de minutes. Les matières grasses sont collectées et elles représentent le beurre (**Bettache et al., 2012**).

#### ***1.2.9- La crème, la Zebda ou beurre frais :***

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





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

## **II.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 divisées 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, CO<sub>2</sub> et autres acides organiques **(Priyanka et Prakash, 2009)**.

## **II.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)(Tableau04).

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.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.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.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.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 espèce *mesenteroides cremoris* et *dextranicum* et *Ln. lactis* et *Ln. Pseudomesenteroides* et *Ln. paramesenteroides* (**Collins et al., 1993 ; Laease, 2005**).

### **II.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 04 :** Les différents genres de bactéries lactiques et leurs principales caractéristiques (**Laurent et al., 1998**).

<b>Genre</b>	<b>Morphologie</b>	<b>Fermentation</b>	<b>Température optimale</b>	<b>Nombre d'espèces</b>
<i>Lactobacilles</i>	Bacilles	Homo ou hétérofermentaires	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	hétérofermentaires	Mésophiles	11
<i>Bifidobacterium</i>	forme irrégulière	Acide acétique et lactique	Mésophiles	25

### **II.3- Intérêts technologiques des bactéries lactiques :**

#### **II.3.1-Activité acidifiante (production d'acide lactique) :**

Le pouvoir acidifiant des bactéries lactiques permet la coagulation du lait (en facilitant l'action de la présure) et l'augmentation de la synérèse du caillé; la participation aux propriétés rhéologiques du produit final; l'inhibition de la croissance des bactéries nuisibles (**Papamanoli et al., 2003**).

#### **II.3.2-Activité protéolytique :**

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

acides. Cette activité protéolytique intervient de ce fait sur le rendement fromager, la texture et la saveur typique du fromage et par conséquent sur les caractéristiques du produit final (**Buist et al., 1998**).

### **II.3.3-Pouvoir aromatisant et pouvoir gazeux :**

Certaines bactéries lactiques sont capables de produire des composés d'arômes qui participent aux qualités organoleptiques des fromages. La plupart des composés d'arôme sont issus du métabolisme du citrate, l'acétoïne et le diacétyle sont les plus importants (**Georgalaki et al., 2002, ;Francois et al., 2007**).

### **II.3.4-Activité bactériostatique (production de bactériocines) :**

Les bactéries lactiques produisent des substances antimicrobiennes de nature protéique appelées bactériocines. Cette caractéristique est utilisée industriellement pour la destruction des bactéries indésirables et pathogènes dans la fabrication d'aliment comme la nisine produite par les lactocoques dirigée contre *Bacillus* et *Clostridium*, la plantaricine et la sakacine produites toutes les deux par les lactobacilles actives sur *E. coli*, *Listeria* et certaines levures (**Ogunbanwo et al., 2003 ; Zambunelli et Chiavari, 2002**), contribuant ainsi à la préservation de l'équilibre microbien et organoleptique du fromage (**Harris et al., 1989 ; Georgalaki et al., 2002**).

### **II.3.5-Propriété probiotique :**

Le terme "probiotique", dérive de deux mots grecs "pros" et "bios" qui signifient « pour la vie » (**Bernier, 2010**).

La définition actuelle des "probiotiques" est celle adoptée par le comité mixte d'experts **FAO/WHO (2002)** qui les définit comme "des microorganismes vivants qui, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, exercent un effet bénéfique sur la santé de l'hôte".

#### **II.3.5.1-Les bactéries probiotiques**

Plusieurs espèces de bactéries ou levures sont considérées comme étant probiotiques. Malgré cette grande diversité, les bifidobactéries et les lactobacilles sont les deux principales souches de bactéries probiotiques utilisées dans les produits alimentaires (**Heyman et al., 2006**). Ils font partie du groupe hétérogène des bactéries lactiques dont la production d'acide lactique est le produit final principal de leur métabolisme (**Prescott et al., 2003**), rarement des

non-lactiques comme *Enterococcus faecalis* ou encore certaines levures comme *Saccharomyces boulardii*.

Les bactéries probiotiques sont présentes naturellement 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.3.5.2- Rôle d'un probiotique**

Un 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. (**Heyman et al., 2006**).

Les bactéries probiotiques n'ont pas la capacité de coloniser de façon permanente, le tractus gastro-intestinal. Par contre, la consommation sur une base régulière permet de modifier la microflore intestinale et d'atteindre un équilibre entre les mauvaises bactéries et les microorganismes bénéfiques (**Sherman et al., 2009**).

Ils doivent être aussi capables de survivre et de proliférer dans les milieux naturels occupés par des bactéries pathogènes. Plusieurs études ont attribué de nombreuses propriétés aux probiotiques dans lesquels ils participent à l'activation de l'immunité et à la réduction d'allergies chez les sujets à risque (**Gourbeyre et al., 2008**). La résistance à l'acide gastrique et à la bile, permet aux probiotiques de survivre dans le tube digestif où réside une partie de l'immunité (**Grangette et al., 2002**).

Certaines études ont cependant montré que la consommation de probiotiques non-viables peut aussi engendrer des effets bénéfiques sur le système immunitaire (**Salminen et al., 1999**).

Les probiotiques participent au développement du système immunitaire chez le nourrisson et l'améliorent chez la personne âgée en augmentant le nombre de phagocytes et de lymphocytes natural killer, première défense contre un agent exogène (**Sherman et al., 2009**). Ils agissent également sur l'immunité en colonisant le tractus intestinal, réalisant ainsi « un effet barrière ».

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**).

### **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, le diacétyl et les bactériocines (**Dortu et Thonart, 2009**).

#### **III.1- Les acides organiques :**

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**).

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.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 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). 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 05** : Classification des bactériocines de bactéries lactiques (Luquet et Corrieu, 2005).

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

#### III.3.1.1- 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.

**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 30 kDa 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 06:** 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 zooepidemicus</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. Ces substances vont interagir avec des récepteurs de peptidoglycane en provoquant l'augmentation de la perméabilité de la membrane et par conséquent, la mort cellulaire. Cependant, les modes d'action des bactériocines sur la membrane sont variés (Dortu et Thonart, 2009).

*Matériel et Méthodes*  
***Matériel et Méthodes***

**1 .Echantillonnage :**

- **Provenances des échantillons :**

Trois échantillons de préparations laitières traditionnelles ont été prélevés à partir de trois régions Algérien durant la période de février-mai 2015 (**Tableau 07**), (**Photo 01**). Ces prélèvements ont été placés dans des sachets en plastique stérile, puis conservé à froid 4°C au laboratoire pour être analysés.

**La figure 02** résume le procédé de fabrication des échantillons prélevés.

**Tableau 07:** Caractéristiques des échantillons prélevés.

<b>Numéro d'échantillon</b>	<b>Application traditionnelle</b>	<b>Origine d'échantillon</b>	<b>Date de prélèvement</b>	<b>Matière de production</b>	<b>Observation</b>
<b>E<sub>1</sub></b>	Beurre traditionnel ( <i>Zebda</i> )	Wilaya Djelfa	18.02.2015	Lait de vache	Matière très molle, couleur blanche
<b>E<sub>2</sub></b>	Lait fermenté Lben	Wilaya Tlemcen (Tirni)	18.03.2015	Lait de vache	Matière liquide
<b>E<sub>3</sub></b>	Beurre liquide Traditionnel ( <i>Dhan</i> )	Wilaya El-Bayad	25.03.2015	Lait de vache	Matière fondu Jaune



Photo 01 : produits laitiers traditionnels: 1 « Zebda Djelfa », 2 « Lben Tlemcen », 3 « Dhan El-Bayad ».

2. Procédé de fabrication des échantillons :

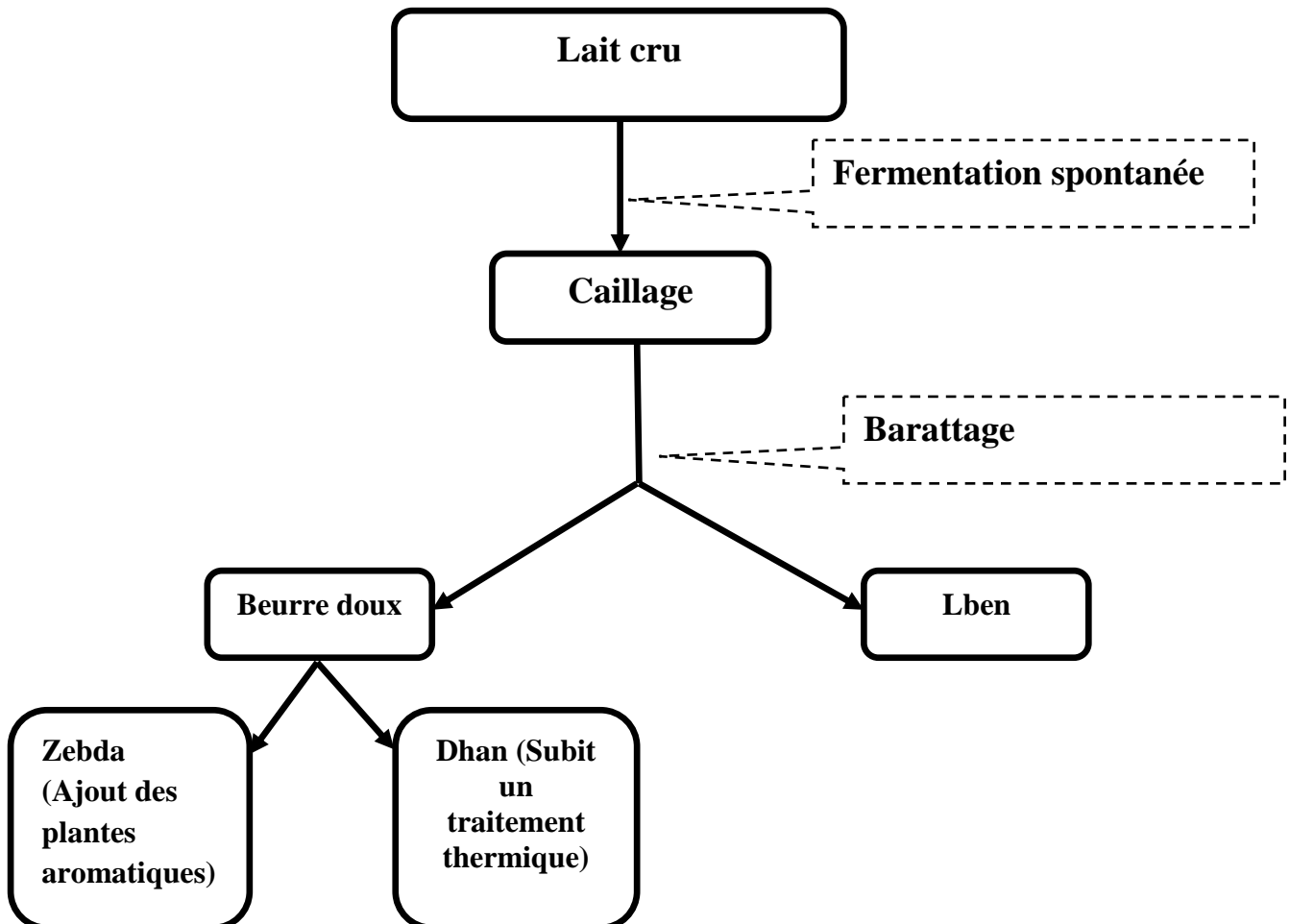


Figure02 : procédé de fabrication de beurre et Lben.

### **3. Mesure du pH :**

- 10g de chaque échantillon de produits laitiers (Zebda, Dhan) ont été homogénéisés avec 20 ml d'eau distillée.
- Dans le cas de Lben on prend 20 ml de ce produit sans ajout de l'eau.

Le pH des échantillons a été déterminé directement en utilisant un pH-mètre (HANNA Inst. pH 211, microprocessor pH meter) où l'électrode a été insérée directement dans chaque échantillon (**Owusu-Kwarteng, 2012**). Deux essais ont été réalisés.

### **4. Dénombrement de la flore mésophile totale :**

- 10g ou 10 ml de l'échantillon de produits laitiers (solide /liquide) a été homogénéisés vigoureusement avec 90 ml d'eau physiologique 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  $10^{-8}$ ); on augmente la dilution si le produit est trop chargé.

- On coule la gélose P.C.A maintenue en surfusion à  $45^{\circ}\text{C}$  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  $30^{\circ}\text{C}$  pendant 24 à 48 heures.

#### ✓ **Lecture**

On calcul le nombre des colonies et on exprime les résultats sous forme du nombre de micro-organismes totaux à  $30^{\circ}\text{C}$  par gramme en tenant compte du facteur de dilution éventuel, on prend en considération les boîtes contenant entre 30 à 300 colonies (**Cheriguene et al., 2007**).

### **5. Isolement des bactéries lactiques :**

Dix grammes/millilitres de chaque échantillon (Zebda, Lben ou Dhan) a été homogénéisés avec 90 ml de l'eau physiologique stérile (0,85% de NaCl), additionnée de peptone (0,1%), A partir de cette dilution  $10^{-1}$ , des dilutions décimales (de  $10^{-2}$  à  $10^{-8}$ ) 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 à deux pH (5.6/6.2) et le milieu M17 .

le milieu MRS à pH=6,2 a été utilisé pour la croissance de la microflore lactique totale, les lactobacilles sont énumérés sur milieu MRS acidifié à pH=5,6 (**De Man et al., 1960**).

Les cultures sont incubées pendant 72 heures à 30°C 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, incubées à 30°C ou 45°C afin de s'assurer de la pureté des cultures (**Kacem et Karam, 2006, Cheriguene et al., 2007**).

## **6. Mode de calcul :**

Pour qu'un résultat soit valable, il est nécessaire de compter les colonies sur au moins une boîte contenant au minimum 15 colonies et inférieur à 300 colonies. Le nombre N calculé de microorganismes présents dans l'échantillon pour essai, en tant que moyenne pondérée à partir de deux dilutions successives, à l'aide de la formule suivante:

$$N = \frac{\sum C}{V (n_1 + 0,1n_2) d}$$

Où : **C** : la somme des colonies comptées sur toutes les boîtes retenues de deux dilutions successives et dont au moins une contient 15 colonies;

**V** : est le volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte, en millilitres;

**n<sub>1</sub>** : est le nombre des boîtes retenues à la première dilution;

**n<sub>2</sub>** : est le nombre des boîtes retenues à la seconde dilution;

**d** : est le taux de dilution correspondant à la première dilution retenue (**Norme AFNOR NF ISO 7218, 2004**).

## **7. Conservation des souches :**

La conservation des souches isolées pures a été réalisée soit sur la gélose MRS inclinée à 4±1°C; soit sur le milieu MRS contenant du glycérol 20% à -80°C pour une conservation a long terme.

## **8. Identification des bactéries lactiques :**

Sur chacune des boîtes servant aux dénombrements, nous classons les colonies en catégories selon leur aspect macroscopique. Dans chaque catégorie, nous choisissons aléatoirement une colonie supposée représentative parmi celles, observées pour réaliser les premiers tests d'orientation.

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.

### **8.1. Tests morphologiques :**

#### **8.1.1-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**).

Avec cette coloration double, les bactéries « Gram-positif » apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries « Gram-négatif » sont colorées en rose ou en rouge (**Delarras, 2007**).

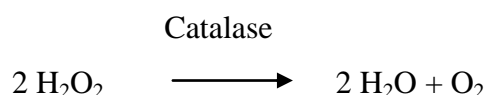
#### **8.1.2- Etat frais :**

Un tube contenant le milieu MRS liquide (10 ml) est inoculé par une colonie. On incube à  $28\pm 1^\circ\text{C}$  pendant 16 à 24h, jusqu' a l'apparition d'un trouble microbien. Pour vérifier la mobilité et la forme, une lame additionnée d'une goutte de la culture est observée au microscope.

### **8.2. Tests biochimiques :**

#### **8.2.1-Test de la catalase :**

Chez les bactéries douées d'un métabolisme oxydatif, le système respiratoire compte parmi d'autres enzymes une catalase, celle-ci décompose l'eau oxygénée selon la réaction suivante :



La méthode de recherche de la catalase consiste à étaler une colonie sur une lame de verre sur laquelle on ajoute une goutte de  $\text{H}_2\text{O}_2$  à 10 volumes. La présence de l'enzyme se manifeste par un dégagement de bulles de gaz (**Zinedine, 2004**).



### **8.2.2-Test d'oxydase :**

*Technique de recherche à partir d'une suspension bactérienne :* dans 10 gouttes d'une suspension épaisse de bactéries en eau physiologique, on ajoute soit quelques gouttes de réactif, soit un disque. La coloration rose apparait en 1 min environ (**Marchal et al., 1991**).

### **8.2.3- Urée-Indole :**

Une suspension dense de bactéries est introduite dans 0,5 ml de milieu Urée-Indole, l'incubation se fait à  $30^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$  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 positive (**Marchal et al., 1991**).

### **8.2.4- 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**).

### **8.2.5- 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 24 h. 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**).

### **8.2.6- TSI (Gélose Glucose-Lactose-Saccharose- $\text{H}_2\text{S}$ ):**

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 H<sub>2</sub>S (noircissement de la zone joignant la pente et le culot) et de Gaz (bulles dans la gélose) (Marchal et al., 1991).

#### **8.2.7- Citrate de Simmons:**

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°C ± 1°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).

#### **8.2.8- Effet de NaCl, du pH et de la température :**

Quatre milieux de MRS liquides ont été utilisés contenant différentes concentration 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 autre série a été réalisée sur le milieu MRS avec incubation à 5°C, 37°C et 44,5°C (Badis et al., 2005).

#### **8.2.9- 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 min, après refroidissement brusque, elles sont incubées à 30°C ± 1°C pendant 48 à 72 h. Un résultat positif se traduit par un trouble (Badis et al., 2005).

#### **8.2.10- Galerie API 20E (bio Mérieux) :**

La galerie API 20E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne (prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé, et homogénéiser dans un tube contenant 5 ml d'eau physiologique).

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture. L'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification.

**NB :** on a utilisé la galerie API 20E juste pour compléter et confirmer les tests de la galerie classique sachant que cette dernière est destinée à l'identification des entérobactéries.

### 9. Interactions microbienne :

Dans cette partie, on a réalisé des interactions entre les souches isolées de produits laitiers traditionnels et sept bactéries pathogènes de références et une levure. Les microorganismes utilisés dans notre étude sont mentionnés dans le tableau suivant :

**Tableau 08** : Origines des souches utilisées dans les différents tests d'activité antimicrobienne.

<b>Bactérie</b>	<b>Gram</b>	<b>code</b>	<b>Origine</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	positif	ATCC6538	MNHN
<i>Micrococcus luteus</i>		ATCC9341	MNHN
<i>Listeria monocytogenes</i>		ATCC19111	LAPRONA
<i>Bacillus cereus</i>		ATCC25921	LAPRONA
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	négatif	ATCC27853	MNHN
<i>Escherichia coli</i>		ATCC8739	MNHN
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		IBMC Strasbourg	MNHN
<i>Candida albicans</i>	levure	IBMC Strasbourg	MNHN

**MNHN** : Muséum National d'Histoire Naturelle(Paris).

**LAPRONA** : Laboratoire des Produits Naturels (Université de Tlemcen).

#### 9.1- Interaction bactéries lactiques /bactéries pathogènes :

##### 9.1.1- Préparation des précultures des bactéries tests (pathogènes) :

Les bactéries pathogènes sont cultivées dans 10 ml de bouillon BHIB à  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  pendant 18 à 24 h. Pour la levure, *Candida albicans* est cultivée dans 10 ml du bouillon Sabouraud à  $30 \pm 1^\circ\text{C}$  pendant 48 à 72 h.

### **9.1.2- Méthode d'inhibition bactérienne en gélose superposée (double gélose)**

Pour étudier l'activité antimicrobienne des souches, la méthode décrite par **Fleming et al., (1975)** a été adoptée avec une légère modification.

L'activité antimicrobienne des bactéries lactiques est évaluée contre les souches pathogènes. Les bactéries lactiques sont mises en culture dans le milieu MRS et les pathogènes sont eux aussi initialement cultivées dans leurs milieux de prédilection (Bouillons : Infusion Cœur Cervele et Sabouraud). Schématiquement, un spot de 5 µl de la suspension de bactéries lactiques à tester provenant d'une nuit et préalablement ajustée à une densité optique de  $DO_{550nm} = 1 \pm 0.05$  est déposé à la surface de la gélose MRS. Pour permettre le développement de colonies visibles macroscopiquement, les géloses sont incubées pendant 24 à 48 h à 30°C en aérobiose. Les géloses sont ensuite recouvertes avec 10 ml de gélose molle Coeur-Cervele (7g/l d'agar) qui avait préalablement étéensemencée avec 0.1 ml de la suspension bactérienne du pathogène à tester (calibrée à la densité optique de  $DO_{550nm} = 1 \pm 0.05$  à partir d'une culture d'une nuit). L'incubation se fait à 37°C en aérobiose pendant 24h pour les bactéries et pendant 48 à 72h à 30°C pour la levure. Une zone claire autour du spot de bactéries lactiques est considérée comme une inhibition positive et ce traduit par la mesure des diamètres.

La nystatine (100µg/disque) et l'ampicilline (10µg/disque) sont utilisées comme des témoins pour la levure et les bactéries pathogènes, respectivement (**Samot et Badet ,2013 ; Fleming et al., 1975**).

### **9.2- Recherche des substances inhibitrices de nature protéique :**

Dans le but de vérifier que l'effet antimicrobien est de nature protéique, un traitement avec une protéase est évalué.

Les souches de bactéries lactiques ont été remises en culture 24 h dans 10 mL du bouillon MRS et incubées à 30°C. Cette suspension bactérienne est centrifugée à 10.000 g pendant 10 minutes. Le surnageant est alors séparé du culot et filtré à l'aide d'un filtre Millipore de 0.20 µm (*Minisarts®*, Sartorius Stedim Biotech), ceci afin d'éliminer toute éventuelle cellule bactérienne persistante dans le surnageant. Ce dernier a été neutralisé à un pH égal à 6,8 à l'aide d'une solution de NaOH 5N.

Un volume de 250 µL d'une solution de protéinase K (0,2 mg/mL, Sigma-Aldrich) est ajouté à 10 mL du bouillon MRS. Le tout est incubé à 37°C pendant une nuit.

Des cultures microbiennes des microorganismes cibles ont été réalisées sur bouillon BHIB à 37°C pendant la nuit pour les bactéries et sur bouillon Sabouraud à 30°C pendant 24 à 48h pour la levure. Les microorganismes cibles ont été cultivés jusqu'à ce que l'absorbance  $A_{620nm}$

soit comprise entre 0,08 et 0,1. Ensuite, un étalement de ces souches sur les géloses Mueller-Hinton (bactéries) ou Sabouraud (levure) a été réalisé à l'aide d'un écouvillon stérile.

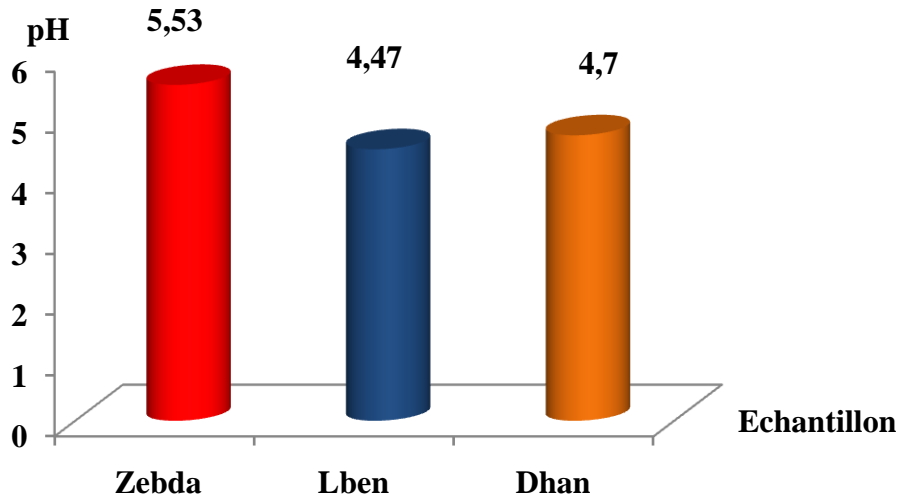
Des disques de papiers Wattman stériles de 06 mm de diamètre sont imbibés avec 10 µl du surnageant filtré et déposés sur la gélose qui a été préalablementensemencée avec la souche pathogène. Les géloses sont laissées à incuber à 37°C et à 30°C en aérobiose pour les bactéries et la levure, respectivement. La lecture se fait après 24h pour les bactéries et 48 à 72h à pour la levure.

La nystatine (100µg/disque) et l'ampicilline (10µg/disque) sont utilisées comme des témoins pour la levure et pour les bactéries pathogènes, respectivement (**Samot et Badet, 2013, Balcázar et al., 2008**).

# Résultat et discussion

**1. pH des échantillons :**

La figure 03, représente les résultats de mesure de pH de trois produits laitiers traditionnels :



**Figure 03 :** pH des trois échantillons (Zebda, Lben, et Dhan).

Les résultats des mesures de pH montrent que la Zebda a un pH légèrement élevé 5.53 par rapport au Dhan qui possède un pH 4.7 puis le lait fermenté Lben a une valeur moyenne de 4.47.

Selon les travaux de **Ouadghiri (2009)**, les échantillons du lait fermenté écrémé « Lben » montrent un pH variant de 4.25 à 4.57 avec une moyenne de 4.38. D'après les résultats obtenu par **Boubekri et al., (1996)**, le pH de Lben a une valeur de 4.20.

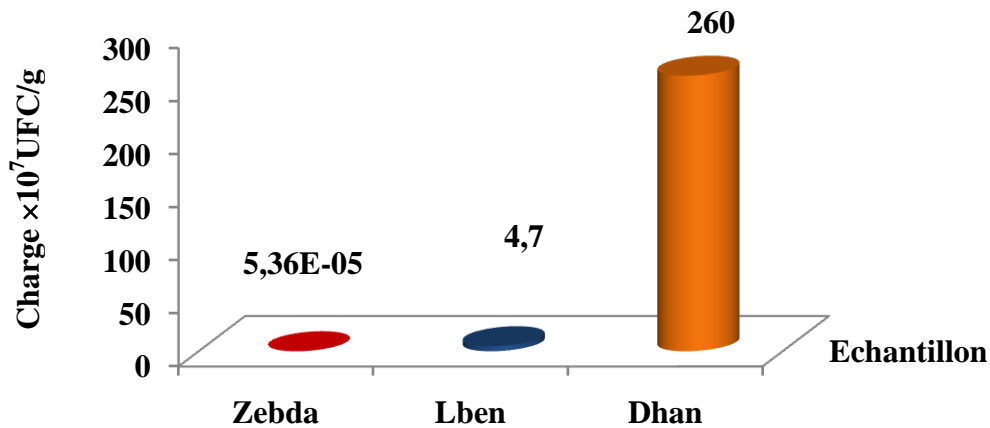
Certaines normes françaises imposent généralement un pH inférieur à 4,5 ou 4,6 pour le lait fermenté (**Luquet et Corrieu, 1998**). donc la valeur de pH obtenu se mettre d'accord avec les résultats des auteurs précédent.

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

Selon les travaux de **Belyagoubi et Abdelouahid (2013)** le pH de Zebda wilaya d'Adrar est 4,55 et Dhan wilaya de Laghouat à une valeur de 4, 71. Alors la valeur de pH de Dhan est similaire de celle reporté par les auteurs par contre le pH de Zebda est légèrement acide.

L'acidité peut être expliquée par l'activité des bactéries lactiques. Plus la charge des bactéries lactiques est élevée, plus il y a une augmentation de la production d'acide lactique et par conséquent un abaissement de pH.

## 2. Dénombrement de la flore mésophile totale :



**Figure 04 :** Dénombrement de la flore mésophile totale à 30°C.

Le dénombrement de la flore mésophile totale à 30°C sur milieu P.C.A montre que le Dhan possède la plus grande charge microbienne ( $260 \times 10^7$  UFC/g), puis Lben a une charge microbienne de  $4,7 \times 10^7$  UFC/ml, Part contre, la plus faible charge est celle de Zebda ( $0,0000536 \times 10^7$  UFC/g).

Ces valeurs n'accord pas avec résultats mentionnées par **Belyagoubi et Abdelouahid (2013)** où Dhan de wilaya de Laghouat possède une valeur  $4 \times 10^7$  UFC/g et Zebda de wilaya d'Adrar est  $2,2 \times 10^2$  UFC/g.

D'après les travaux de **Tantaoui -Elaraki et al., (1983)** qui ont trouvés que le Lben possède une charge microbienne qui varie entre  $4,10 \times 10^7$  et  $380 \times 10^7$  UFC/ml, nous résultats sont en accord avec les valeurs mentionné.

La connaissance de la composition microbienne du lait est d'un intérêt particulier pour les agriculteurs et les transformateurs du lait. En effet, le lait dans les cellules du pis est stérile (**Tolle, 1980**), mais la glande mammaire, la peau du pis (**Brisabois et al., 1997**), le matériel de la traite, la litière, la qualité de l'air et les pratiques des éleveurs (**Sevi et al., 1998; Ménard et al., 2004**) sont des sources de contamination.

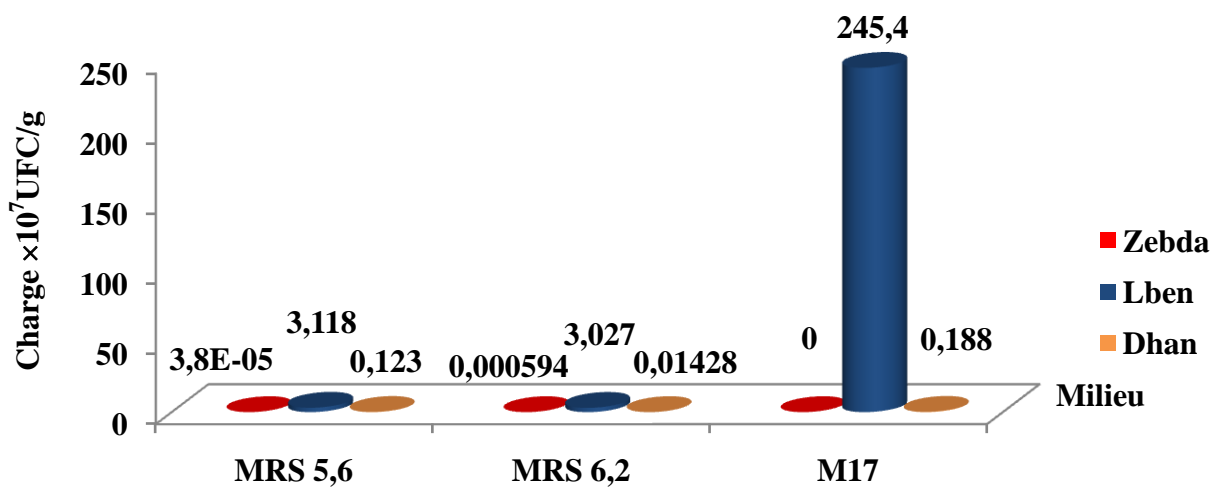




**Photo 02** : Dénombrement de la flore mésophile totale  
Sur le milieu P.C.A à 30°C.

### 3 .Isolement des bactéries lactiques :

Pour le dénombrement de la flore lactique, nous avons utilisé trois milieux : MRS (pH 5.6 et 6.2) et M17, et deux température d'incubation 30 et 45°C.

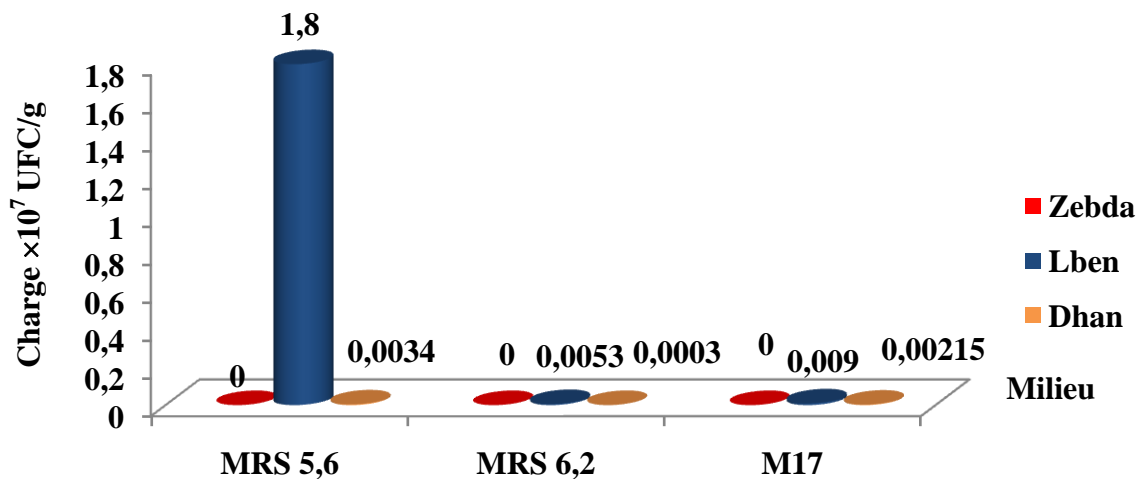


**Figure 05** : Dénombrement des bactéries lactiques à 30°C.

Le nombre total de bactéries lactiques comptées sur MRS<sub>5,6</sub> et M17 varie entre 3.12 et 245.4x10<sup>7</sup>UFC/ml par boîte pour Lben, ensuite le Dhan avec un nombre compté sur les trois milieux varie entre 0.014 et 0.188 x 10<sup>7</sup>UFC/g. Par contre la Zebda reste l'échantillon de produits laitiers le moins chargé en flore lactique, avec une absence de microorganismes sur le milieu M17.

Selon les travaux de **Belyagoubi et Abdelouahid (2013)** la Zebda de la région d'Adrar possède un nombre de microorganismes de  $10^6$  UFC/g compté sur le milieu MRS et M17 à une température de 28°C. Donc ces résultats sont élevés par rapport aux nos résultats. Ces mêmes auteurs ont mentionnés un nombre des bactéries de  $6 \times 10^1$  et de  $8 \times 10^1$  UFC/g sur les milieux MRS et M17, respectivement pour le Dhan, dont ces valeurs sont inférieures à nos résultats.

Nos résultats du dénombrement des bactéries lactique du Lben sur le milieu M17 à une température de 30°C montrent une charge de  $24,54 \times 10^8$  UFC/ml, ces valeurs coïncident avec les travaux de **Tantaoui -Elaraki et al.,(1983)** où le nombre de bactéries est de  $33 \times 10^8$  UFC/ml.



**Figure 06 :** Dénombrement des bactéries lactiques à 45°C.

À 45°C, le Lben possède la plus grande charge en bactéries lactiques sur les trois milieux MRS (pH 5.6 et 6.2) et M17, puis Dhan avec un nombre des microorganismes varie entre 0.215 et  $0.0034 \times 10^7$  UFC/g sur les milieux précédant, concernant Zebda, On observe une absence totale de microorganismes dans les trois milieux sur cette température d'incubation.

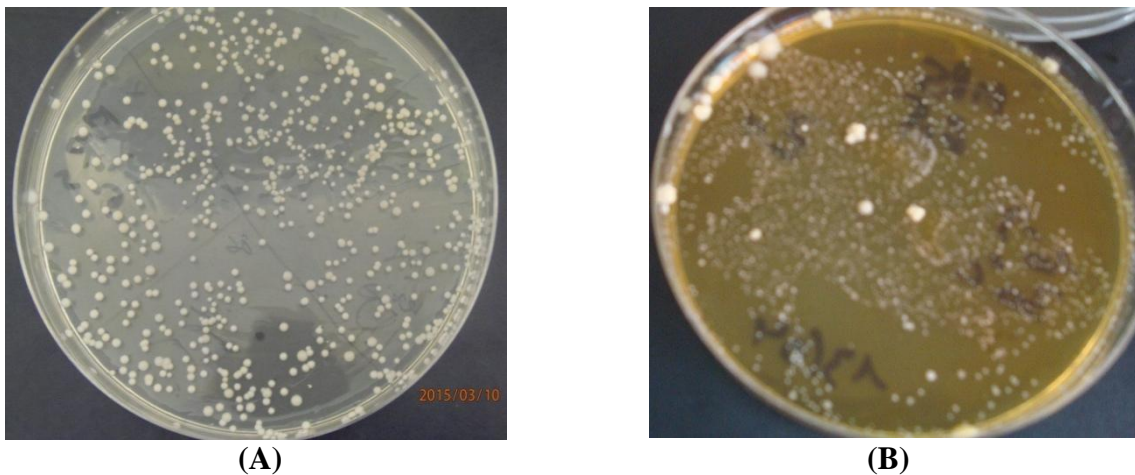
D'après les résultats mentionnés par **Belyagoubi et Abdelouahid (2013)** où ils ont trouvés que la Zebda de la région d'Adrar à une charge bactérienne de  $5 \times 10^4$  et  $2.4 \times 10^5$  UFC/g sur les milieux MRS et M17, respectivement contrairement à notre échantillon dont nous avons remarqué une absence de la charge microbienne. Cela indique probablement que nos Zebda n'a pas été traitée thermiquement. Ainsi que la méthode de préparation du produit laitier qui change d'une région à une autre peut influencer la flore à savoir l'ajout des plantes

aromatiques comme le romarin qui est très utilisable dans certaine régions à fin de conserver la Zebda le plus longtemps possible. Aussi il y'a d'autres facteurs tel que le climat (chaud/froid) et la période de prélèvement (hiver/été) qui ont un fort effet sur le développement des bactéries.

Concernant le Dhan ces mêmes auteurs ont été trouvés un nombre de  $2 \times 10^2$  et  $4 \times 10^2$  UFC /g sur les milieux MRS et M17, respectivement dont ces valeurs sont inférieures à nos résultats.

Selon les travaux de (Bekouche ,2006) a été estimés une charge de  $4 \times 10^7$  et  $7 \times 10^7$  UFC/g sur le milieu M17 et MRS respectivement, dans le lai cru de vache.

D'après la **figure 06** au dessous on remarquant une charge bactérienne assez élevée de Lben cultivé sur la gélose MRS 5.6 dans une température d'incubation de  $45^\circ\text{C}$  cela explique que le Lben possède des bactéries tolèrent plus les milieux acides.



**Photo03** : Dénombrement de la flore lactique  
Sur le milieu ;(A) : MRS, (B) : M17.

**4 .Identification des souches :** 19 souches ont été isolées dont (S1, S2, S3) ont été isolés a partir de Zebda et (S4 jusqu'à S15) isolé a partir de Lben et (S16, S17, S18 S19) a partir de Dhan.

Cette identification a été faite en deux étapes. Nous avons tout d'abord étudié La morphologie des souches isolées, leur production de catalase, croissance à différentes températures et leur capacité à produire du gaz à partir du glucose. Nous Avons ensuite étudié un certain nombre de caractères plus précis d'identification qui Sont indiqués plus loin.

#### **4.1-Examen macroscopique**

Les cultures obtenues sur les boites 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.

Toutes les souches isolées ont été catalase et oxydase négative.

Le résultat de l'examen macroscopique est illustré Dans le tableau 09.

**Tableau 09:** aspects macroscopiques et milieu d'isolements des souches.

Code de la souche	Milieu	Observation macroscopique
S1 (04 DJ)	MRS $10^{-1}$ ; 30°C ; pH : 6.2	Marron claire petite
S2 (05 DJ)	MRS $10^{-1}$ ; 30°C ; pH : 6.2	Blanche petite
S3 (06 DJ)	MRS $10^{-1}$ ; 30°C ; pH : 5.6	Marron claire très petite
S4 (70 LW)	MRS $10^{-8}$ ; 30°C ; pH : 6.2	Blanche petite
S5 (71LW)	M17 $10^{-1}$ ; 30°C	Blanche très petite
S6 (72 LW)	M17 $10^{-2}$ ; 45C	Blanche petite
S7 (73 LW)	MRS $10^{-3}$ ; 45°C ; pH : 6.2	Transparente très petite
S8 (74 LW)	M17 $10^{-6}$ ; 30°C	Blanche petite
S9 (75 LW)	M17 $10^{-8}$ ; 30°C	Blanche petite
S10 (76 LW)	MRS $10^{-6}$ 30°C ; pH : 6.2	Blanche très petite
S11 (77 LW)	M17 $10^{-7}$ ; 30°C	Blanche petite
S12 (78 LW)	MRS $10^{-7}$ 30°C ; pH : 6.2	Blanche petite
S13 (79 LW)	MRS $10^{-6}$ ; 30°C ; pH : 5.6	Blanche très petite
S14 (80 LW)	MRS $10^{-6}$ ; 30°C ; pH : 5.6	Blanche petite
S15 (81 LW)	M17 $10^{-3}$ 45°C	Marron claire petite
S16 (156DW)	MRS $10^{-1}$ ; 45°C ; pH : 6.2	transparente très petite
S17 (157DW)	MRS $10^{-1}$ ; 45°C ; pH : 6.2	transparente petite
S18 (158DW)	MRS $10^{-1}$ ; 45°C ; pH : 5.6	Blanche très petite
S19 (159DW)	MRS $10^{-1}$ ; 45°C ; pH : 5.6	Blanche petite

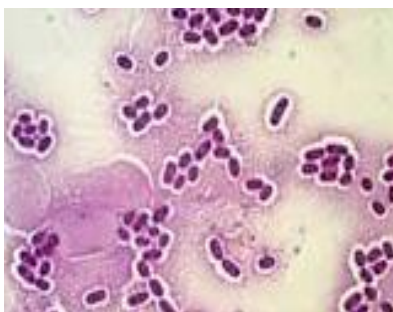
**4.2-Examen microscopique**

Le résultat de cet examen est résumé dans le tableau 10.

**Tableau 10:** résultats des tests coloration de Gram, catalase, oxydase et observation microscopique:

Souches	Coloration de Gram	Catalase	Oxydase	Observation microscopique:forme/regroupement
S1	+	-	-	Coccobacilles/ chainettes
S2	+	-	-	Coques/ amas
S3	+	-	-	Bacilles/ chainettes
S4	+	-	-	Coques / amas
S5	+	-	-	Coques / chainette
S6	+	-	-	Coques / amas
S7	+	-	-	Coques/ amas
S8	+	-	-	Coques / amas
S9	+	-	-	Coques / amas
S10	+	-	-	Coques / amas
S11	+	-	-	Coques / amas
S12	+	-	-	Coques / amas
S13	+	-	-	Coques/amas
S14	+	-	-	Coques/amas
S15	+	-	-	Coques/amas
S16	+	-	-	Coccobacilles/chainettes isolés
S17	+	-	-	Coccobacilles/chainettes isolés
S18	+	-	-	Coccobacilles/chainettes isolés
S19	+	-	-	Coccobacilles/chainettes isolés

+ : positif ; - : négatif.



(A)



(B)

**Photo 04 ; (A) : coloration de Gram, (B) : état frais.**

### 4.3-Tests de température, pH, NaCl et Thermorésistance

Les résultats de ces tests sont mentionnés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 11:** Tests de température, pH, NaCl et Thermorésistance

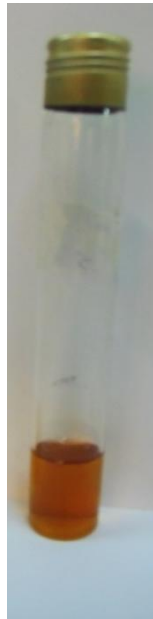
Souche	Température [°C]			pH			NaCl (%)				Thermorésistance (63,5°C/30min)
	4	37	44,5	4,5	6,5	8	2	4	6,5	10	
S3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
S4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
S5	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+
S6	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-
S7	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-
S8	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-
S9	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-
S10	-	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-
S11	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
S12	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
S13	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-
S14	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
S15	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
S16	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-
S17	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-
S18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S19	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ : croissance ; - : pas de croissance.

Les tests effectués ont montrés que :

- Toutes les souches isolées sont capable de se croitre sur le bouillon MRS à une température de 37°C, pour une température de 44.5 °C seulement une souche S6 qui est incapable de se croitre.et pour la température de 4°C on remarquant que les souches isolés a partir de Zebda et Dhan peuvent être multiplié. Par contre, les souches de Lben sauf 3 qui ont une croissance parmi les 12 souches.
- Toutes les souches isolées sont capable de se croitre sur le bouillon MRS à un ph 8 et même pour le pH 6.5 seulement une souche S5, pour un pH de 4.5 une souche isolé a partir de Zebda et deux souches isolé a partir de Dhan et six souches isolé a partir de Lben possédant une croissance.

- Toutes les souches isolées ont été poussées sur le milieu MRS avec 2% et 4% de NaCl. pour 10% de NaCl seulement 7 souches qui ont la possibilité de se croître et 10 souches pour le 6.5 %.
- Parmi les 17 souches isolées, seulement trois souches sont thermorésistantes, où on observe une croissance sur bouillon MRS après un traitement thermique pendant 30 minutes à 63,5°C.



**(A)**



**(B)**

**Photo 05 :** Tests de : Température, pH, NaCl et Thermorésistance ;(A) : absence d'une croissance, (B) : présence d'une croissance.

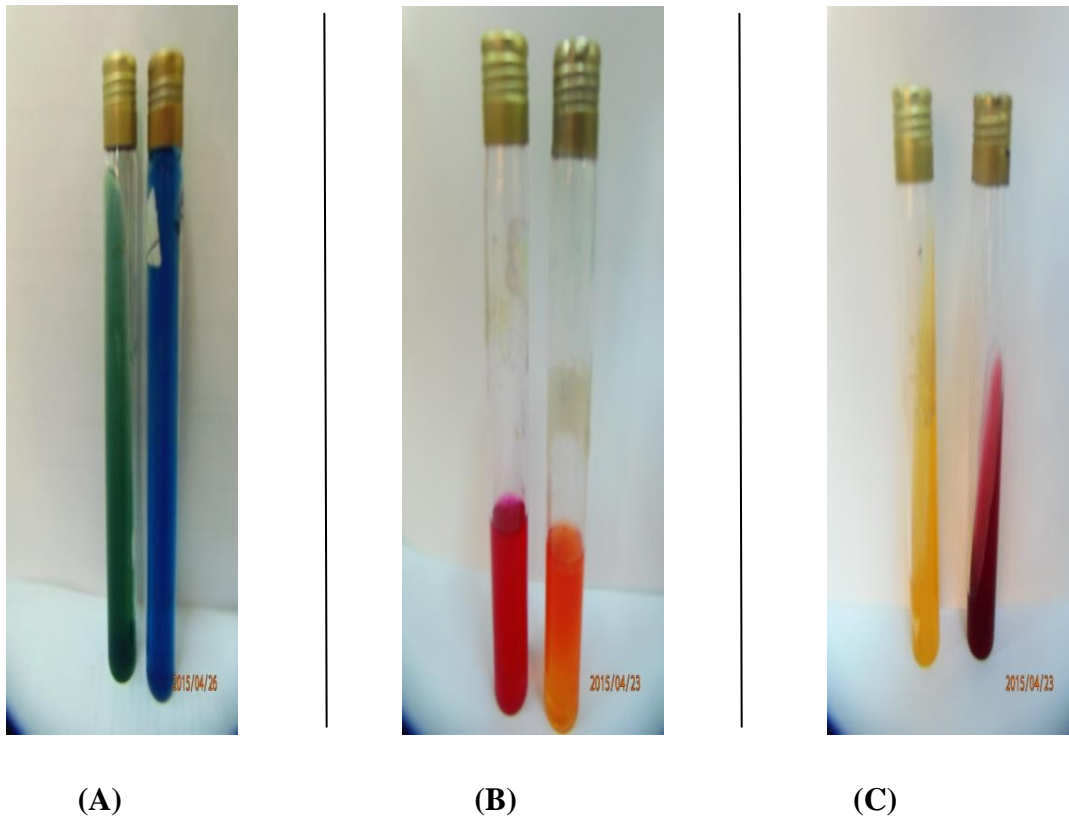


**4.4-Tests biochimiques classiques**

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

+ : test positif; - : test négatif; ± : faible réaction.

Milieu		S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	S13	S14	S15	S16	S17	S18	S19	
<b>Mannito I</b>	<b>Mannitol</b>	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	<b>Mobilité</b>	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	
<b>Clark et Lubs</b>	<b>RM</b>	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	
	<b>VP</b>	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	
<b>Urée Indole</b>	<b>Urée</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	<b>Indole</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<b>Citrate de Simmons</b>	<b>Utilisation du citrate</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	+-	-	-	-	-	-	-	-	+-	
<b>TSI</b>	<b>H<sub>2</sub>S</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	<b>Gaz</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	<b>Glucose</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	<b>Saccharose</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	<b>Lactose</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+



**Photo 06 :** Tests biochimiques classiques ;(A) : milieu citrate de Simmons, (B) : milieu mannitol mobilité, (C) : milieu TSI.

#### **4.5-Galerie API 20E (bio Mérieux) :**

Parmi dix-sept isolées ont a sélectionnées quatre pour l'identification de la galerie API 20 E à cause de :

- La disponibilité des produits d'identification ;
- Les résultats des tests de l'antagonisme ;

**Tableau 13 :** Résultats de la plaque API20 des bactéries lactiques isolées des produits laitiers traditionnels algériens.

Numéro de la souche	ONPG	ADH	ODC	LDC	CIT	H <sub>2</sub> S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
<b>S19</b>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>S8</b>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<b>S11</b>	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<b>S12</b>	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-

+ : croissance positive ; - : croissance négative ; +- : croissance tardive.



**Photo 07 :** Tests biochimiques de la plaque API 20E.

Selon le schéma général de différenciation des genres appartenant aux bactéries lactique (Carr et al., 2002) et d'après l'utilisation des tests d'identifications morphologiques et biochimiques classiques et de la Galerie API 20 E, nous souches bactériennes isolées à partir de trois produits laitiers différents peuvent être apparentées probablement au genres : *Lactobacillus* (S<sub>3</sub>, S<sub>16</sub>, S<sub>17</sub>, S<sub>18</sub> et S<sub>19</sub>), *Enterococcus* (S<sub>4</sub>, S<sub>5</sub>, S<sub>12</sub> et S<sub>15</sub>), *Lactococcus* (S<sub>6</sub>) et *Streptococcus* (S<sub>7</sub>, S<sub>8</sub>, S<sub>9</sub>, S<sub>10</sub>, S<sub>11</sub>, S<sub>13</sub> et S<sub>14</sub>).

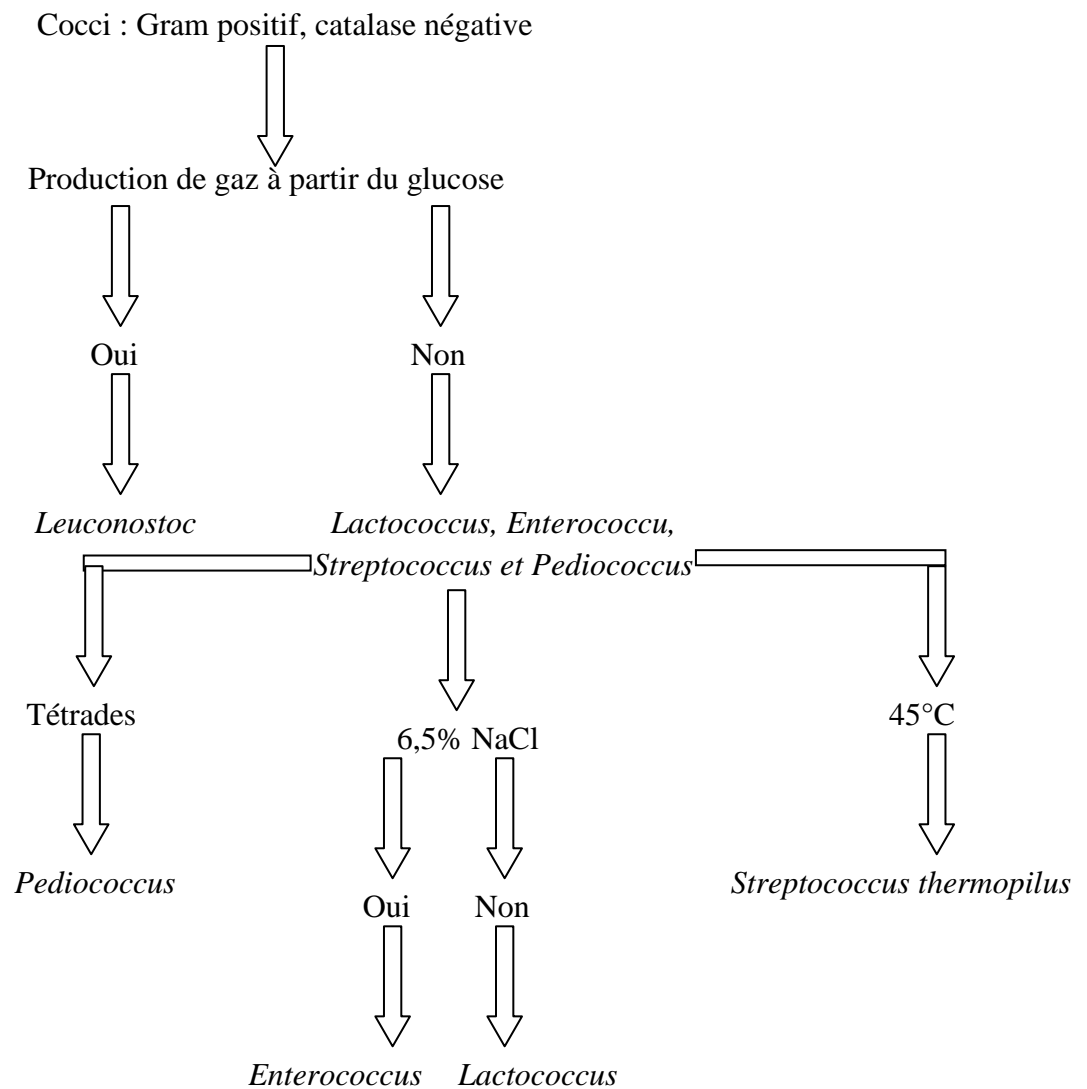


Figure 07: Schéma de différenciation entre les bactéries lactiques (Carr et al., 2002).

5. Résultats des tests antimicrobiens

5.1. Résultats d'antagonisme bactéries lactiques/bactéries pathogènes

5.1.1- Antagonisme bactéries lactiques/ *Micrococcus luteus* ATCC9341

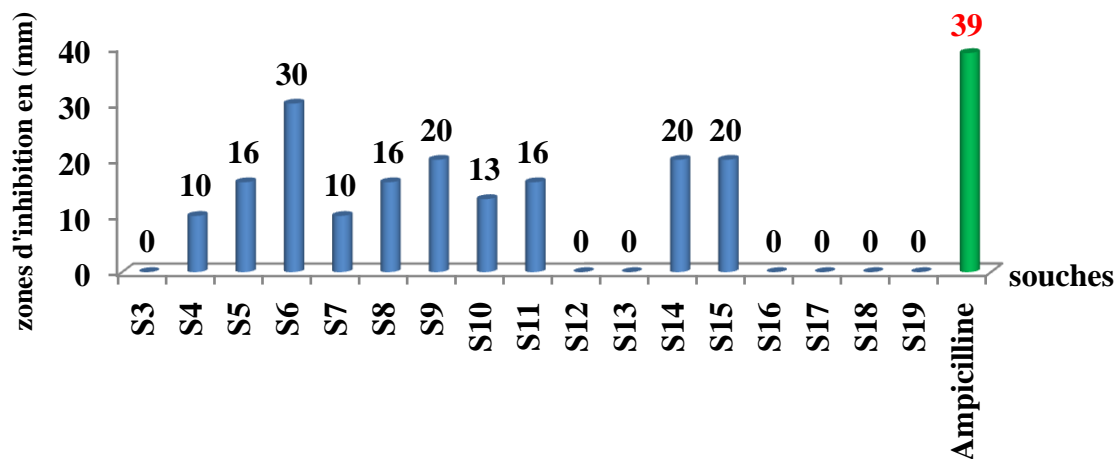


Figure 08: Résultats des interactions entre les souches de bactéries

Lactiques et *Micrococcus luteus*.

La figure 08 montre que 10 souches ont un effet d'antagonisme contre *M. luteus*, avec des diamètres d'inhibition compris entre 10 et 20 mm. Cet effet peu arriver jusqu'à 30 mm pour la souche S<sub>6</sub> isolée du Lben. Pour le contrôle positif, le diamètre d'inhibition est de 39 mm pour l'ampicilline, ce que nous a permis de dire que cette souche est sensible (CASFM, 2012).

5.1.2-Antagonisme bactéries lactiques/ *Staphylococcus aureus* ATCC6538

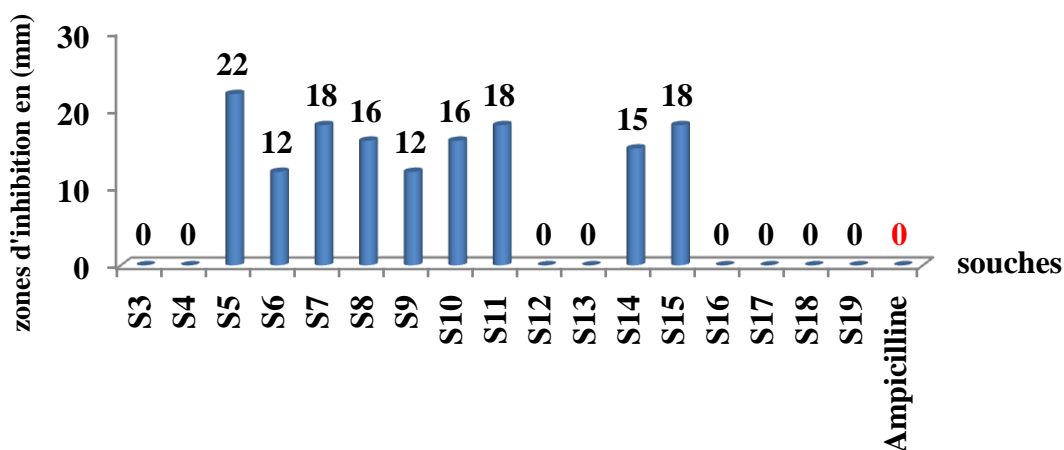


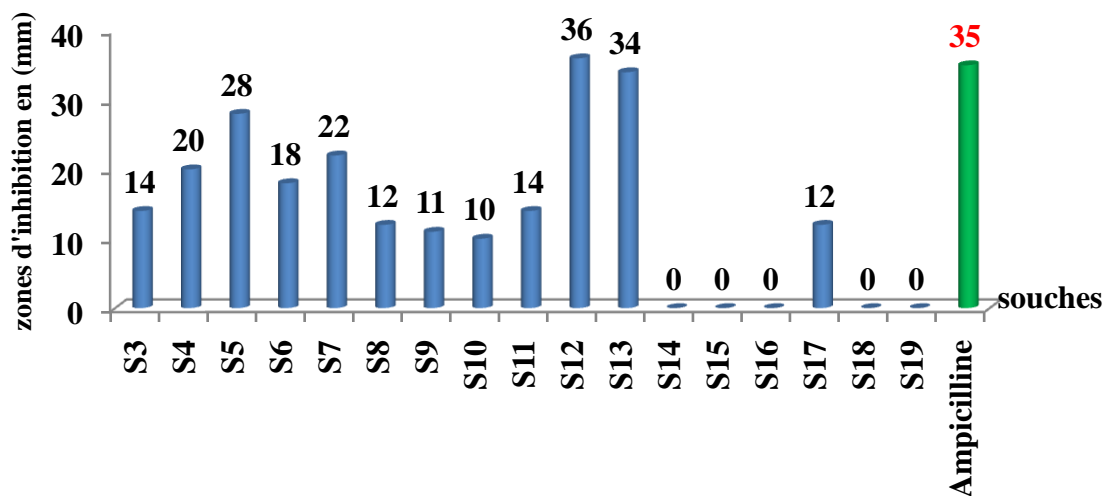
Figure 09: Résultats des interactions entre les souches de bactéries

Lactiques et *Staphylococcus aureus*

Selon les résultats obtenus dans la **figure 09**, 9 souches sont actives contre *S. aureus* dont les zones d'inhibition varient entre 13 et 22 mm. Pour le contrôle positif, le diamètre d'inhibition est de 0 mm pour l'ampicilline, ce qui nous a permis de dire que cette souche est résistante (CASFM, 2012).

Selon les travaux de **Labioui et al.,(2005)** la zone d'inhibition des bactéries lactiques sur ce microorganismes pathogène varie entre 23.3 et 32.5 mm ce qui coïncide avec nos résultats.

### 5.1.3-Antagonisme bactéries lactiques/ *Listeria monocytogenes* ATCC19111



**Figure10** : Résultats des interactions entre les souches de bactéries

Lactiques et / *Listeria monocytogenes*

Nous remarquons que 12 souches sont actives contre *L. monocytogenes* avec des diamètres d'inhibition varient entre 10 et 38 mm avec un maximum de 40 mm (S<sub>12</sub>) (**Figure10**).

Pour le contrôle positif, le diamètre d'inhibition est de 35 mm pour l'ampicilline, ce que nous a permis de dire que cette souche est sensible (CASFM, 2012).

5.1.4-Antagonisme bactéries lactiques/ *Bacillus cereus* ATCC25921

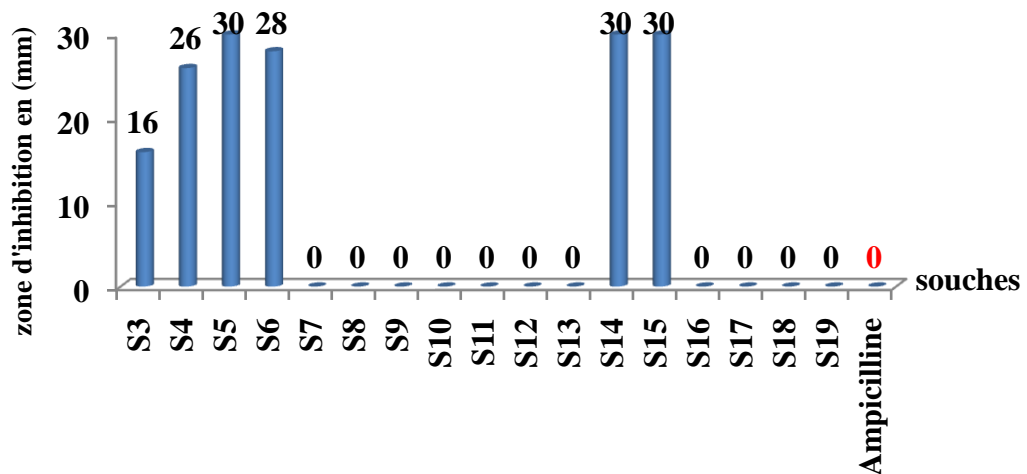


Figure 11 : Résultats des interactions entre les souches de bactéries Lactiques et / *Bacillus cereus*

D’après la **figure 11**, seulement 6 souches ont un effet antagoniste contre *B. cereus* avec des zones d’inhibition de 15 et 30 mm. Pour le contrôle positif, le diamètre d’inhibition est de 0 mm pour l’ampicilline, ce que nous a permis de dire que cette souche est résistante (CASFM, 2012).

5.1.5-Antagonisme bactéries lactiques/ *Escherichia coli* ATCC8739

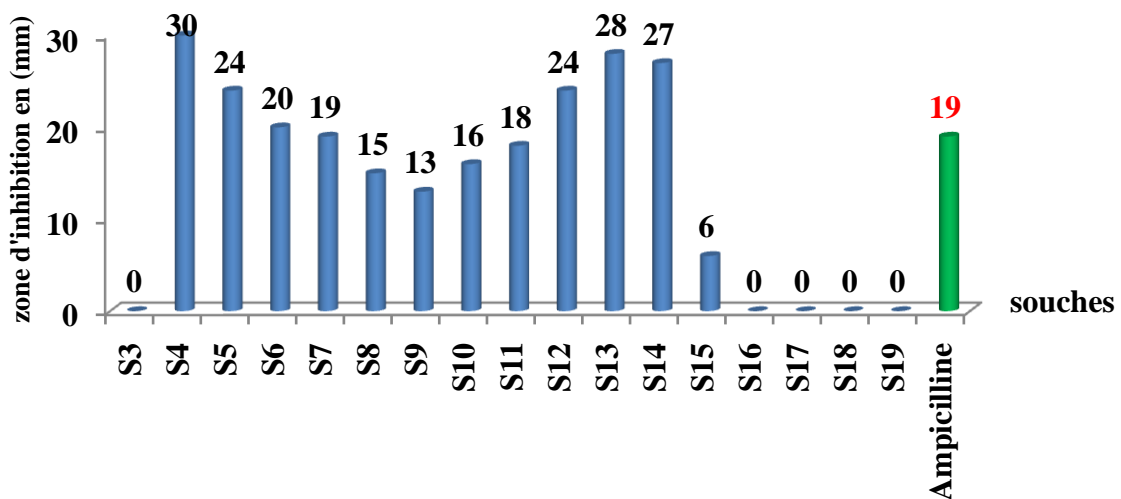


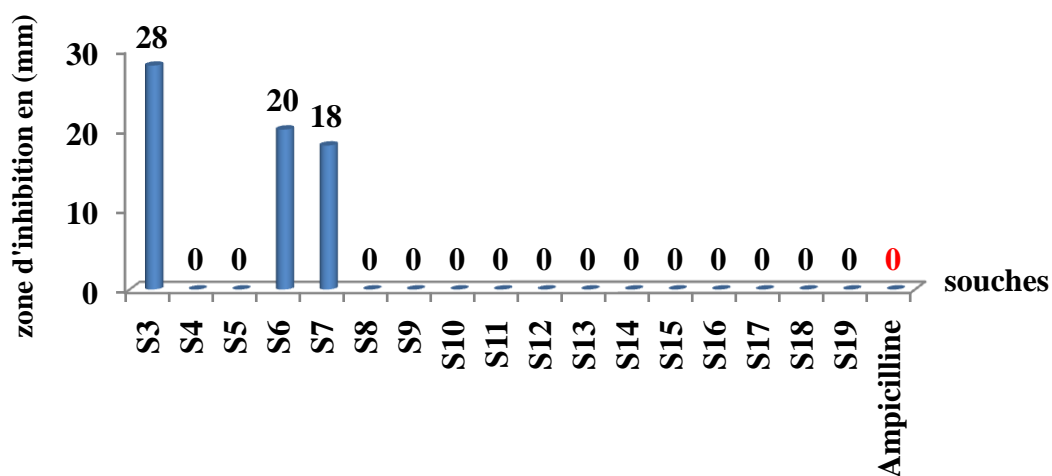
Figure 12: Résultats des interactions entre les souches de bactéries Lactiques et / *Escherichia coli*

Les 12 souches enregistrées dans la **figure 12** sont actives avec des diamètres d'inhibition compris entre 6 et 22 mm. Sauf pour la souche S4 où le diamètre arrive à 30 mm.

Pour le contrôle positif, le diamètre d'inhibition est de 19 mm pour l'ampicilline, ce que nous a permis de dire que cette souche est sensible (**CASFM, 2012**).

Selon les travaux de **Labioui et al.,(2005)** la zone d'inhibition des bactéries lactiques sur ce microorganismes pathogène varie entre 22,5 et 31.5 mm. Ces valeurs sont presque similaires à nos résultats.

### 5.1.6-Antagonisme bactéries lactiques/ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853



**Figure 13** : Résultats des interactions entre les souches de bactéries Lactiques et / *Pseudomonas aeruginosa*

Seulement 3 souches sont actives avec des diamètres d'inhibition de 18, 20 et 30 mm pour les souches S<sub>7</sub>, S<sub>6</sub> et S<sub>3</sub>, respectivement.

Pour le contrôle positif, le diamètre d'inhibition est de 0 mm pour l'ampicilline, ce qui nous a permis de dire que cette souche est résistante (**CASFM, 2012**).

Selon les travaux de **Labioui et al.,(2005)** la zone d'inhibition des bactéries lactiques sur *Pseudomonas aeruginosa* varie entre 19,4 et 23,2 mm. Ces valeurs sont presque similaires à nos résultats.



5.1.7-Antagonisme bactéries lactiques/ *Klebsiella pneumoniae* IBMC Strasbourg

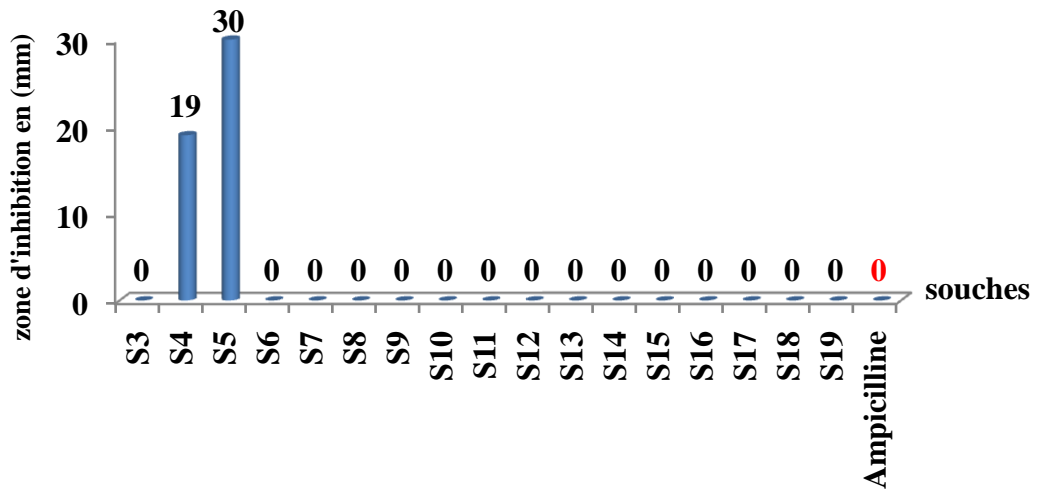


Figure 14 : Résultats des interactions entre les souches de bactéries Lactiques et / *Klebsiella pneumoniae*

Uniquement deux souches de bactéries lactiques sont actives S4 et S5 avec des diamètres d’inhibition de 20 et 30 mm, respectivement.

Pour le contrôle positif, le diamètre d’inhibition est de 0 mm pour l’ampicilline, ce qui nous a permis de dire que cette souche est résistante (CASFM, 2012).

Nos résultats coïncident avec les travaux de Labioui et al. (2005), qui ont trouvés des zones comprise entre 20.4 et 25.7 mm.

5.1.8-Antagonisme bactéries lactiques/ *Candida albicans* IBMC Strasbourg

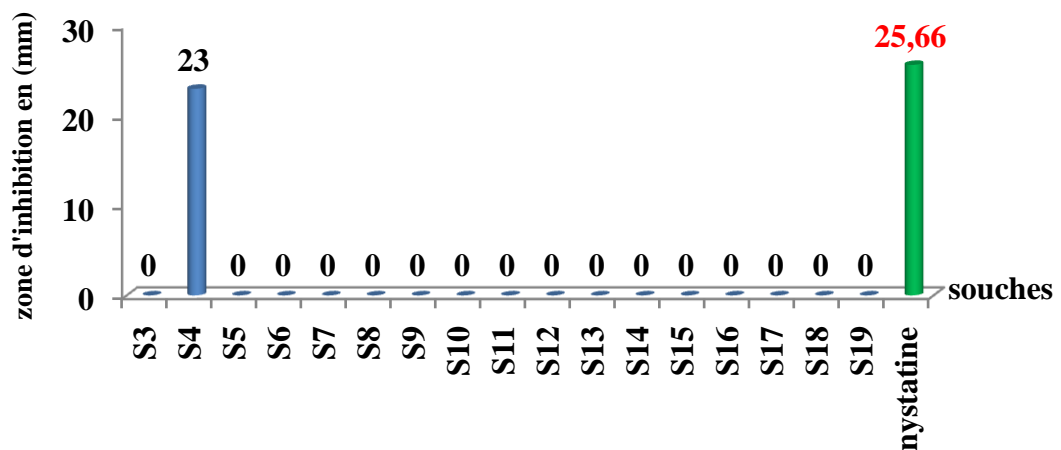
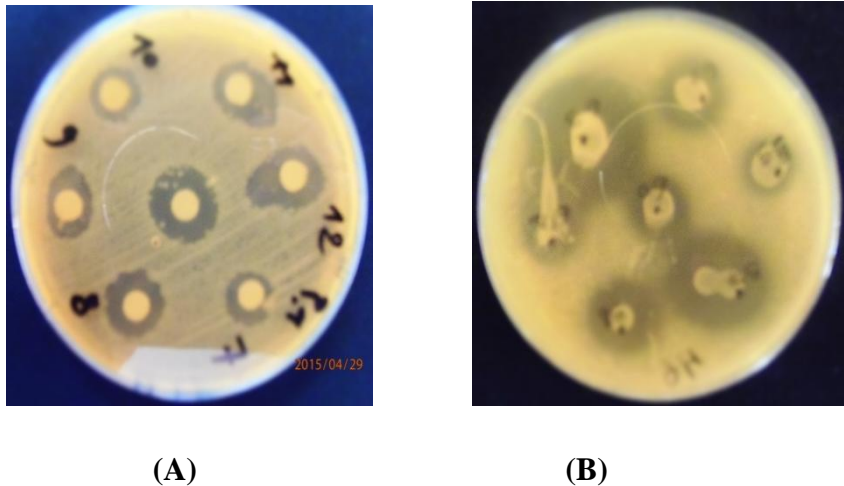


Figure 15: Résultats des interactions entre les souches de bactéries

Lactiques et / *Candida albicans*

Presque la totalité des souches illustrées dans la **figure 15** sont inactives sur la levure *Candida albicans* sauf pour la souche S<sub>4</sub> où nous avons enregistré une zone d'inhibition de 24 mm.

Pour le contrôle positif, le diamètre d'inhibition est de 25.66 mm pour la nystatine, ce qui nous a permis de dire que cette souche est sensible (**Drouhete et Dupont 1978 ; Drouhete et al.,1981**).



**Photos 08 :** Activités antibactériennes des souches lactiques vis-à-vis ; **(A) :** *Pseudomonas aeruginosa*, **(B) :** *Micrococcus luteus*.

Les résultats des interactions ont montré que les souches isolées possèdent un effet inhibiteur contre les 8 souches pathogènes utilisées.

Ces résultats ne coïncident pas avec les travaux de **Savadogo et al., (2004)** pour certaines souches, où 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*. et 10 mm pour *B.cereus*. Par contre, les souches de *Leuconostoc* isolées par **Tadesse et al., (2007)** à partir de Borde et de Shamita d'Ethiopie (produits fermentés traditionnels) sont plus actives sur *E. coli* (15 mm) mais elles ont montré des diamètres des zones d'inhibition similaires avec nos résultats sur *S. aureus* (16 mm).

Ces valeurs peuvent coïncident 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 :Zebda,Dhan sont de l'ordre de 08 mm jusqu'au 24 mm et 6.5 a 34 mm, respectivement .

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

L'activité antibactérienne peut souvent être due à la production des d'acide organiques, avec une réduction conséquente en pH ou à la production des peroxyde d'hydrogene, elle peut également être due à la production des bactériocines ou des composés de type bactériocines.

Ceci suggère que les propriétés antibactériennes des bactéries lactiques fonctionnelles permet de réduire le nombre d'autre microorganismes indésirables dont les produits laitiers ainsi d'effectuer un rôle essentiel dans la préservation de produits destiné à la consommation humaine (**Joffraud et al., 2006**).

## **5.2. Recherche des substances inhibitrices de nature protéique :**

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**).

Les résultats obtenus ont montré que les 17 bactéries lactiques sont des producteurs de bactériocines avec des diamètres d'inhibition égale à 0 mm.

La perte de l'activité antimicrobienne après traitement avec protéase K indique la sensibilité des composés actifs sécrétés par les souches mises en culture qui peuvent être probablement des bactériocines. Puisque les bactériocines sont par définition des substances protéiques. Elles doivent être sensibles à au moins à une enzyme. En conséquence, la sensibilité aux enzymes protéolytiques est le critère principal dans leur caractérisation (**Çon et Gökalp, 2000**).

Ces valeurs sont concordées avec les travaux de **Luo et al., (2011)**, où les souches T1, S2, S9, T11 et T14 isolées du lait traditionnel de Yack fermenté naturellement de plateau Qinghai Tibet, ont des diamètres d'inhibition de 0 mm contre les bactéries pathogènes utilisées.

D'autres résultats sont similaires selon les travaux cités dans la bibliographie réalisés par **Samot J. et Badet (2013)** et **Cizeikiene et al., (2013)** sur les bactéries lactiques.

*Conclusion*

Cette étude nous a permis d'avoir une idée sur la composition de la flore microbiologique en bactéries lactiques de quelque produits laitiers traditionnel (Lben, Zebda et Dhan).

Au cours de notre étude dont le but était d'identifier et de mettre en valeur les activités antibactériennes des bactéries lactiques,

Les résultats obtenus lors de notre étude montrent que la charge de la flore mésophile totale est élevée dans l'échantillon Dhan, par contre le nombre des bactéries lactiques est très élevé dans l'échantillon Lben sur le milieu M17 à 30°C et MRS 5.6 a température d'incubation 45°C, en revanche pour Zebda il y a une absence totale des bactéries sur les trois milieux dans une température d'incubation 45°C.

D'après l'utilisation des tests d'identifications morphologiques et biochimiques classiques et de la Galerie API 20 E, nos souches bactériennes isolées à partir de trois produits laitiers différents peuvent être apparentées probablement au genres : *Lactobacillus* (S<sub>3</sub>, S<sub>16</sub>, S<sub>17</sub>, S<sub>18</sub> et S<sub>19</sub>), *Enterococcus* (S<sub>4</sub>, S<sub>5</sub>, S<sub>12</sub> et S<sub>15</sub>), *Lactococcus* (S<sub>6</sub>) et *Streptococcus* (S<sub>7</sub>, S<sub>8</sub>, S<sub>9</sub>, S<sub>10</sub>, S<sub>11</sub>, S<sub>13</sub> et S<sub>14</sub>).

Les diamètres des zones d'inhibition des bactéries lactiques vis à vis huit souches pathogènes :

(*Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*), varient entre 5 mm et 40 mm,

Parmi les 17 souches isolées, quelques souches sont fortement actives sur les souches pathogènes à savoir, S<sub>13</sub> sur *Escherichia coli*, S<sub>7</sub> sur *Listeria monocytogenes*, S<sub>5</sub> sur *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumoniae*, S<sub>4</sub> sur *Candida albicans*, S<sub>6</sub> sur *Micrococcus luteus*, S<sub>15</sub> sur *Bacillus cereus* et S<sub>3</sub> sur *Pseudomonas aeruginosa*.

On conclut que les produits laitiers traditionnels constituent une source de nouvelles souches antimicrobiennes.

Nous espérons donner suite à ces travaux afin de compléter l'identification génotypique des souches de bactéries lactiques isolées et aussi d'identifier les substances antimicrobiennes car pour cela la réalisation d'une série de test est impérative à savoir peroxyde, phage et l'effet des enzymes protéolytiques qui 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*

- ❑ **AFNOR, 1996** . NF ISO 7218. Microbiologie des aliments. Règles générales pour les examens microbiologiques. 47 pages.
- ❑ **Aissaoui, Z. 2004** . Le fromage traditionnel algerien«bouhezza». seminaire d'animation regional. "technologies douces et procedés de separation au service de la qualité et de l'inocuité des aliments", INSAT-Tunis (communication orale), Tunisie/27-28-29 novembre Actes des sommaires p 118 à 124.

*B*

- ❑ **Badis, A., Guetarni, D., Kihal, M., Ouzrout, R. 2005** . Caractérisation phénotypique des Bactéries lactiques isolées à partir de lait de chèvre de deux populations locales "Arabia et Kabyle». *Scien &Tech*, **23** : 30-37.
- ❑ **Balcázar, J., Vendrell, D., De Blas, I., Ruiz-Zarzuela, I., Muzquiz, J., Girones, O. 2008**. Characterization of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from intestinal microbiota of fish. *Aquaculture* **278**: 188–191.
- ❑ **Bekhouche, F., Boulahrouf, A. 2005**. Etudes quantitative et qualitative des bactéries lactiques de lait cru produits par des vaches locales appartenant a six stations d'élevage de Constantine. *Sciences & Technologie C* – N°23,38-45.
- ❑ **Bekouche, F. 2006**. Bactéries lactiques du lait cru de vache et Microorganismes pectinolytiques des olives noires et vertes : 1. Isolement et Identification biochimique. 2. Evaluation et Optimisation de la production d'enzyme polygalacturonase . Institut de la nutrition de la l'alimentation des technologies agro-alimentaires, Université de Mentouri Constantine, Algerie. Pages 43.
- ❑ **Belyagoubi1, L., 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.
- ❑ **Benhamouche . 2005. In Boudjani, W. 2009**. Action de la flore lactique sur les bactéries contamination. Mémoire d'ingénieur, Institut de biologie, Université de Tlemcen ,Algerie .Pages 73.
- ❑ **Benkerroum, N., Tantaoui-Elaraki, A., El Marrakchi, A. 1984**. Qualité hygiénique du Lben marocain. *Microbio. Aliment Nutr.* **2**: 199-206
- ❑ **Benkerroum, N., Tamime, A.Y. 2004**. Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben, smen) to small industrial scale. *Food Microbiol.* **21**: 399–314.

- ❑ **Bernier, L.** Les probiotiques en 2010 : une revue de la littérature. 2010. Thèse Pharm : Université d'Angers,166.
- ❑ **Bettache, G.,Adjoudj, F.,Hadadj,M .,kiha, M . 2012.** Isolation and identification of Lactic Acid Bacteria from Dhan ,a traditional Butter and their major techhnological traits,world applied sciences journal 17(4).pp :480-488.
- ❑ **Boubekri, k .,Ohta, y . 1996.** Identification of lactic aid bacteria from Algerian traditional dairy products .(Lben,jben and smen) to small industrial scale.Food Microbiol 21,399-413.
- ❑ **Boudjani, W. 2009.** Action de la flore lactique sur les bactéries contamination. Mémoire d'ingénieur, Institut de biologie, Université de Tlemcen,Algerie. Pages 73.
- ❑ **Bousnane., Djadi . 2009.** Caractérisation d'un fromage traditionnel algérien « takammerite » de la région de Ghardaïa).mémoire d'ingénieur d'état en industrie agro-alimentaire .Université Mentouri de Constantine,Algerie, 72p
- ❑ **Brisabois, A., Lafarge, V., Brouillaud, A., De Buysse, M.L., Collette, C., Garin-Bastuji, B., 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.
- ❑ **Buist, G., Venema, G., kok, J. 1998.** Autolysis of *Lactococcus lactis* influenced by proteolysis. *Journal of biotechnology*. N° **22**: 5974-5953.

*C*

- ❑ **Carr, F.J ., Chill, D., Maida, N . 2002.** Lactic Acid Bacteria :A Literature Survery.Crit.rev.microbiol ;**28** :4,281-370.
- ❑ **CASFM.** Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. Edition janvier 2012.
- ❑ **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., Bensoltane, A. 2007.** Enumeration and identification of lactic microflora in Algerian goat's milk. In *African Journal of Biotechnology* Vol. 6 (15), PP. 1854-1861.
- ❑ **Claps, S., Morone ,G . 2011.** Produits laitiers et fromagers traditionnels de l'Algérie. In *Développement de la Filière laitière et Fromagère en Algérie*, CorFilac: 57-77.
- ❑ **Cniel . 2006.** Produit laitier. Maison de lait.



- ❑ **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.
- ❑ **Çon , A.H., Gökalp , H.Y . 2000.** Production of bacteriocin-like metabolites by lactic acid cultures isolated from sucuk samples. *Meat Sci.*, 55: 89-96.
- ❑ **Corsetti, A., Gobbetti, M., Rossi, J., 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(2)**: 253–256.
- ❑ **Cizeikiene, D., Juodeikiene, G., Paskevicius, A., Bartkiene, E. 2013.** Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against pathogenic and spoilage microorganism isolated from food and their control in wheat bread. *Food Control* **31** : 539-545.

*D*

- ❑ **Delarras, C. 2007.** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire : Aliments, produits cosmétiques, eaux, produits
- ❑ **De Man , J.D., Rogosa, M., Sharpe, M.E. 1960.** A Medium for the Cultivation of Lactobacilli. – *J. Appl. Bact.* **23**: 130-135.
- ❑ **De Roissart, H., Luquet, F.M. 1994.** Les bactéries lactiques. *Uriage, Lorica, France, 1* : 1- 286 pharmaceutiques. Éditions Médicales Internationales, Lavoisier 476 p.
- ❑ **Dellaglio, F., De Roissart, H., Torriani, S., Curk, M., Janssens, C. 1994.** Bactéries lactiques aspects fondamentaux et technologiques, **1** : 25-114.
- ❑ **Desmazeaud, M. 1996.** L'état des connaissances en matériel de nutrition de bactéries lactiques. *le lait*, **63** : 267-16.
- ❑ **Dharam, P., Narender, R. P. 2007 .** Indian traditional dairy products: an overview. International Conference on Traditional Dairy Foods. November 14-17. NDRI, KARNAL (INDIA)
- ❑ **Dillon, J.C. 2008.** Place du lait dans l'alimentation humaine en région chaude. Edition A. P.G (Agro Paris Tech).
- ❑ **Dortu, C., Thonart, P. 2009.** Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 143-154.
- ❑ **Drouhet., Dupont, B .Bull. Soc. Fr. Mycol. Med. 1978, 2, 165-170 –** AntibioGramme des champignons aux antifongiques
- ❑ **Drouhet, E. et al.,** Standardization of the antifungal sensitivity tests. Report of the Study Group of the French Society for Medical Mycology, *Bull. Soc. Fr. Mycol. Med.*, 1981, 10, n°1, 131-134.

- ❑ **Drouault, S., Corthier, G. 2001.** Effets des bactéries lactiques ingérées avec des laits fermentés.
- ❑ **Duquesne, S. 2007.** Peptides antimicrobiens des entérobactéries. Etude de la voie de maturation et du mécanisme d'import de la microcine J25, peptide antimicrobien inhibiteur de l'ARN polymérase. Thèse de Doctorat en Biochimie. Université Pierre et Marie Curie-Paris 6. France. 190 p.

*É*

- ❑ **El-Baradei, G., Delacroix-Buchet, A. and Ogier, J.C. 2008 .** Bacterial biodiversity of traditional Zabady fermented milk. *Int. J. Food Microbiol.* **121**: 295–301.

*F*

- ❑ **FAO/WHO. 2002.** Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. In Guidelines for the evaluation of probiotics in food. London, Ontario, Canada, pp.1-11.
- ❑ **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*

- ❑ **Georgalaki, M.D., Papadelli, M., Anastasiou, R., Kalantzopoulos, G., Tsakalidou, E. 2002.** Purification and characterization of the X-prolyl-dipeptidyl aminopeptidase (PepX) from *Streptococcus macedonicus* and cloning of the pepX gene. *Le Lait*, **82**, 657–671.
- ❑ **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.
- ❑ **Gourbeyre, P., Denery, S., and Bodinier, M. 2011.** Probiotics, prebiotics, and synbiotics: impact on the gut immune system and allergic reactions. *J Leukoc Biol.***85**: 685-695.
- ❑ **Grangette, C., Muller-Alouf, H., Geoffroy, M., Goudercourt, D., Turneer, M., and Mercenier, A. 2002.** Protection against tetanus toxin after intragastric administration of two recombinant lactic acid bacteria: impact of strain viability and in vivo persistence. *Vaccine.***20**: 3304-3309.
- ❑ **Guiraud, J.P. 1998.** Microbiologie des principaux produits alimentaires, Microbiologie alimentaire. Ed ©Dunod, Paris.

*H*

- ❑ **Haller, D., Serrant, P., Granato, D., Schiffrin, E. J., and Blum, S. 2002.** Activation of human NK cells by staphylococci and lactobacilli requires cell contact-dependent costimulation by autologous monocytes. *Clin Diagn Lab Immunol*.9: 649-657.
- ❑ **Harris, L., Daeschel, M., Stiles, M. et Klaenhammer, T. 1989.** *Journal of food protection*, 52, 384.
- ❑ **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.
- ❑ **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. pp. 9-60.
- ❑ **Heyman, M., Heuvelin, E. 2006.** Micro-organismes probiotiques et régulation immunologique le paradoxe. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20 : 85–9.
- ❑ **Höltzel, A. , Gänzle, M. G., Nicholson, G. J., Hammes, W. P., Jung, G. 2000.** The first low molecular weight antibiotic from lactic acid bacteria: reutericyclin, a new tetramic Acid. *Angew Chem Int Ed Engl*, 39(15): 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.

*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
- ❑ **Joffrad, J-J., Cardinal, M., Cornet, J. 2006.** Effect of bacterial interactions on the spoilage of coldsmoked salmon .*International Journal of Food Microbiology*.vol.112,51-61.

*K*

- ❑ **Kacem, M., Karam, N.E. 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 yeasts. *Grasas y Aceites*, 57, 198–204.
- ❑ **Klaenhammer, T. R., et Kullen, M. J. 1999.** Selection and design of probiotics. *Int J Food Microbiol.*50: 45-57.

*L*

- ❑ **Labioui, H., Elmoualdi, L., El Yachioui, M., Ouhssine. 2005.** Selection de souches de bactéries lactique Antibactérienne. *Bull.Soc.Pharm,Bordeaux* ,144,237-250.
- ❑ **Lahsaoui, 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
- ❑ **Larpent, J.P. 1997 .** Mémento technique de microbiologie .3<sup>ème</sup> Ed. Technique et Documentation Lavoisier. Paris. 910 pages.
- ❑ **Lemouchi .2008.** Le fromage traditionnel Bouhezza :enquête dans la wilaya de Tébessa et suivie de l’évolution des caractéristiques physico-chimique de deux fabrication .mémoire d’ingénieur, INATAA, Constantine,65p
- ❑ **Laurent, S. 1998.** Manuel de bactériologie alimentaire. *Poly technica Paris*. 307 pages.
- ❑ **Logan, A. C., and Katzman, M. 2005.** Major depressive disorder: probiotics may be an adjuvant therapy. *Med Hypotheses*.64: 533-538.
- ❑ **Leyral, G., Vierling, E. 2001 .** Microbiologie et toxicologie des aliments .3<sup>ème</sup> édition Doin. France. P. 87-114.
- ❑ **Luo F., Feng S., Sun Q, Xiang W., Zhao J., Zhang J., Yang Z. (2011).** Screening for bacteriocin-producing lactic acid bacteria from kurut, a traditional naturally-fermented yak milk from QinghaieTibet plateau. *Food Control* **22** : 50-53.
- ❑ **Luquet, F.M. et Corrieu, G. 2005.** Bactéries lactiques et probiotiques. Edition Lavoisier, Paris. 307 pages.

*M*

- ❑ **Makhloufi, K.M. 2011 .** Caractérisation d’une bactériocine produite par une bactérie lactique *Leuconostoc pseudomesenteroides* isolée du boza. Thèse de Doctorat en Microbiologie, Biochimie. Université Pierre et Marie Curie-Paris 6. France. 200p.

- ❑ **Marchal, N., Bourdon, J.L. et Richard, CL. 1991.** Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries .3<sup>ème</sup> Ed. , Doin éditeurs, Paris.
- ❑ **Mekentichi, Z.2003.** Qualité physicochimique et bactériologique d'un fromage traditionnel (Bouhezza).mémoire d'ingénieur. Dept Agronomie. Université de Batna.
- ❑ **Mennane, Z., Khedid., K, Zinedine, A., Lagzouli, M., Ouhssine, M. and Elyachioui, M. 2007 .** Microbial characteristics of Klila and Jben traditional Moroccan cheese from raw cow's milk. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, 2,23–27.

*O*

- ❑ **Ogunbanwo, S.T., Sanni, A.I. and Omilude, A.A. 2003.** Characterization of lactobacilli in cheese. *Journal of dairy research*, 25, 431-438.
- ❑ **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
- ❑ **Owusu-Kwarteng, J., Akabanda, F., Nielsen, D.S., Tano-Debrah, K., Glover, R.L. and Jespersen, L. 2012.** Identification of lactic acid bacteria isolated during traditional fura processing in Ghana. *Food Microbiology*, 32, 72–78.

*P*

- ❑ **Papamanoli, E., Tzanetakis, N., Litopoulou-Tzanetaki, E., Kotzekidou, P. 2003.** Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties. *Meat Sci.* 65,859–867
- ❑ **Paul Ross, R., Morgan, S. and Hill, C. 2002.** Preservation and Fermentation: present and future. *Int. J. Food. Microbiol*, **79**: 3 – 16.
- ❑ **Penner, R., Fedorak, R. N., and Madsen, K. L. 2005 a .** Probiotics and nutraceuticals: nonmedicinal treatments of gastrointestinal diseases. *Curr Opin Pharmacol.*5: 596-603.
- ❑ **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.
- ❑ **Priault, G.2003 .** Effet des probiotiques sur l'induction et le maintien de la tolérance orale à la  $\beta$ -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

*R*

- ❑ **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
- ❑ **Rosset, R. 2001.** Etude du cas particulier de *Listeria monocytogenes*, croissance microbienne et froid.

*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.
- ❑ **Salminen, S., Ouwehand, A.C., Benno, Y., Lee, Y.K. 1999.** Probiotics: How should they be defined, *Trends Food Sci. Technol.* **10**:107-110.
- ❑ **Samot, J., Badet, C. 2013.** Antibacterial activity of probiotic candidates for oral health. *Anaerobe* **19** : 34-38.
- ❑ **Savadogo, A., Ouattara, C.A.T., Savadogo, P.W., Ouattara, 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.
- ❑ **Savilahti, E., Kuitunen, M., and Vaarala, O. 2008.** Pre and probiotics in the prevention and treatment of food allergy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*.**8**: 243-248.
- ❑ **Sherman, P. M., Ossa, J. C. & Jonhson-Henry, K . 2009.** Unraveling Mechanisms of Action of Probiotics. *Nutrition in Clinical Practice*, Vol. 24 **(1)** : 10-14.
- ❑ **Siegumfeldt, H., Rechinger, K.B., 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<sup>ème</sup> Edition. Dunod, Paris. P 317.

*T*

- ❑ **Tadesse, G. Ephraim, E. and Ashenafi, M.** Assessment of the antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from Borde and Shamita, traditional Ethiopian fermented beverages, on some food borne pathogens and effect of growth medium on the inhibitory activity. *Internet Journal of Food Safety* **V (5)** .13-20.

- ❑ **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.
- ❑ **Tantaoui –Elaraki, A ., Berrada, M.,El marrakchi, A .,Berramou .A.** .Etude sur le Lben marocain .Le Lait, 1983, 63 (627-628), pp.230-245.
- ❑ **Tolle, A. 1980.** The microflora of the udder. *Bull. Int. Dairy Fed*, **120**: 4–10.
- ❑ **Touati, 1990.** Contribution à l'étude microbiologique et physico-chimique d'un fromage artisanal algérien « la klila ».mémoired'ingénieur, INATAA, Constantine, Algérie, 83p.

*ν*

- ❑ **Vilain, A.C .2010.**Qu'est-ce que le lait ? , *Revue française d'allergologie*, **50** : 124–127.
- ❑ **Vimahieu. 2005.** Composition du lait .Edition Université libre de Bruxelles.

*Annexe*



**Annexe I : Composition des solutions de titrage**

• **Solution de NaOH 0,1N :**

Eau distillé .....	1l
NaOH .....	40g

• **Solution de HCl 1N :**

Eau distillé .....	100ml
Hcl.....	4ml

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

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

Hydrolysats trypsique 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 <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	2g
MgSO <sub>4</sub> .....	0.1 g
MnSO <sub>4</sub> .....	0.05 g
Agar.....	12g
Tween80 .....	1 ml

Eau distillée q.s.p ..... 1000 ml

pH=6.5±0.2 à 37°C

Autoclavage : 121°C /15 min.

• **Milieu M17 :**

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.

• **Sabouraud :**

Peptone de gélatine..... 10g

Glucose ..... 20g

Agar..... 17g

Eau distillée..... 1000 ml

pH5.6

• **Mannitol-mobilité :**

Peptone tryptique de viande..... 20 g

Agar..... 4 g

Mannitol ..... 2 g

KNO<sub>3</sub>..... 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 – H<sub>2</sub>S( Ou milieu TSI ):**

Extrait de viande de bœuf..... 3 g

Extrait de levure ..... 3 g

Peptone ..... 20 g

---

Chlorure de sodium .....	5 g
Citrate ferrique .....	0,3 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

• **Citrate de Simmons :**

Ammonium dihydrogenophosphate.....	1g
Phosphate de dipotassique .....	1g
Chlorure de sodium.....	5g
Citrate de sodium.....	2g
Sulfate magnésium.....	0,2g
Bleu de bromothymol.....	0,08g
Agar .....	15g
Eau distillée .....	1000 ml

pH 6,8

• **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

• **Mueller Hinton :**

Infusion de viande de boeuf .....	2 g
Amidon.....	15 g
Hydrolysate de caséine .....	17g
Agar .....	17 g
Eau distillée.....	1000 mL

pH =7,3

➤ **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

• **Bouillon Sabouraud :**

Peptone de gélatine .....	10g
Glucose.....	20g
Eau distillée.....	1000mL

pH 5,6

• **Clark et Lubs :**

Peptone trypsique 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 <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	1 g
K <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	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

• **Eau physiologique peptonée :**

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

• **Eau physiologie 9 /ml:**

NaCl .....	9g
Eau distillée .....	1000 ml

**Annexe III : la composition des colorants utilisés**

• **Violet de gentiane au cristal :**

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

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

- **Lugol :**

Iode ..... 5g

IO dure de potassium ..... 10g

Eau distillée qsp..... 1g

Flacon brun

- **Fuchsine de Ziehl :**

Fuchsine bosique ..... 10g

Phénol..... 50g

Ethanol à 0.5..... 10cm<sup>3</sup>

Eau distillée ..... 1dm<sup>3</sup>

#### Annexe IV : Tableaux des résultats

**Tableau 14:** pH des échantillons

Produit	Couleur	pH
Beurre traditionnel (Zebda)	blanc	5.53
Lait fermenté Lben	blanc	4.47
Beurre liquide Traditionnel (Dhan)	jaune	4.70

**Tableau 15:**Dénombrement des bactéries lactiques à 30°C (Charge x10<sup>7</sup> UFC/g ; ml)

Echantillon	MRS 5,6	MRS 6,2	M17
Zebda	0,000038	0,000594	0
Lben	3,118	3,027	245,4
Dhan	0,123	0,01428	0,188

**Tableau 16:** Dénombrement des bactéries lactiques à 45°C (Charge x10<sup>7</sup> UFC/g)

Echantillon	MRS 5,6	MRS 6,2	M17
Zebda	0	0	0
Lben	1,8	0,0053	0,009
Dhan	0,0034	0,0003	0,00215

**Tableau 17:** Dénombrement de la flore mésophile totale à 30°C (Charge X10<sup>7</sup> UFC/g)

Echantillon	Zebda	Lben	Dhan
	0,0000536	4,7	260

**Tableau 18:** Diamètre de la zone d'inhibition en mm

Souches	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Candida albicans</i>
S1	0	0	0	0	0	0	0	0
S2	0	0	0	0	0	0	0	0
S3	0	0	14	16	0	28	0	0
S4	10	0	20	26	30	0	19	23
S5	16	22	28	30	24	0	30	0
S6	30	12	18	28	20	20	0	0
S7	10	18	22	0	19	18	0	0
S8	16	16	12	0	15	0	0	0
S9	20	12	11	0	13	0	0	0
S10	13	16	10	0	16	0	0	0
S11	16	18	14	0	18	0	0	0
S12	0	0	36	0	24	0	0	0
S13	0	0	34	0	28	0	0	0
S14	20	15	0	30	27	0	0	0
S15	20	18	0	30	06	0	0	0
S16	0	0	0	0	0	0	0	0
S17	0	0	12	0	0	0	0	0
S18	0	0	0	0	0	0	0	0
S19	0	0	0	0	0	0	0	0
Ampicilline	39	0	35	0	19	0	0	Nystatine = 25.66

## ملخص

في الجزائر، كما هو الحال في العديد من الدول الأخرى في جميع أنحاء العالم نجد منتجات ألبان أصلية حيث عملية التصنيع تتبع من التراث الثقافي للسكان. هذه المواد ناتجة عن تحويل الحليب من أجل إطالة مدة صلاحيته من بين هذه الألبان التقليدية الجزائرية: الزبدة، اللبن، الدهان التي يمكن أن تكون مصادر بكتيريا لبنية ذات النشاط المثبط للسلاسل الممرضة. وبذلك تشكل خطا دفاعيا من خلال إنتاج حامض اللبنيك، وبيروكسيد الهيدروجين و *bacteriocines* تم إحصاء و عد كل الميكروبات الموجودة في منتجات الألبان التقليدية في الأوساط التالية: PCA، (5.6، 6.2) MRS، M17 في درجات حرارة الحضانة 30 و 45 درجة مئوية. تم عزل 17 سلالة بكتيريا لبنية. وقد تم تحديد هذه السلالات لأجناس: *Lactobacillus* (5 سلالات)، *Enterococcus* (4 سلالات)، *Lactococcus* (1 سلالة)، *Streptococcus* (7 سلالات). وقد أدت تفاعلاتها مع ثمانية سلالات مسببة للأمراض:

(*Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*).

إلى ظهور مناطق تثبيط كبيرة بقطر تراوح ما بين 5 ملم و 40 ملم، وبعض السلالات تنتشر جدا ضد البكتيريا المسببة للأمراض مقارنة مع السلالات الأخرى (*S<sub>3</sub>*, *S<sub>4</sub>*, *S<sub>5</sub>*, *S<sub>7</sub>*, *S<sub>13</sub>*, *S<sub>15</sub>*).  
**الكلمات المفتاحية:** منتجات الألبان التقليدية، الزبدة، اللبن، الدهان، البكتيريا اللبنية، التضاد، السلالات الممرضة.

## Résumé

En Algérie, comme dans les différents autres pays du monde on retrouve des produits laitiers indigènes dont le mode de fabrication découle de l'héritage culturel de la population. Ces produits sont issus de la transformation de lait dans le but de prolonger sa durée de conservation. Parmi les préparations lactiques traditionnelles algériennes: Zebda, Lben, Dhan qui peuvent être des sources de bactéries lactiques à activité inhibitrice vis-à-vis des germes pathogènes. Donc elles constituent une ligne de défense par la production d'acide lactique, de peroxyde d'hydrogène et de bactériocines.

Des dénombrements de la flore mésophile totale et la flore lactique des produits laitiers traditionnels ont été effectués. 17 souches de bactéries lactiques ont été isolées sur les milieux M17, MRS<sub>5,6</sub> et MRS<sub>6,2</sub> à des températures d'incubation de 30°C et 45°C. Ces souches ont pu être identifiées aux genres: *Lactobacillus* (5 souches), *Enterococcus* (4 souches), *Lactococcus* (1 souche), *Streptococcus* (7 souches).

Les diamètres des zones d'inhibition des huit souches pathogènes:

(*Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*) varient entre 5 mm et 40 mm, quelques souches sont fortement actives sur les bactéries pathogènes par rapport aux autres souches isolées (*S<sub>3</sub>*, *S<sub>4</sub>*, *S<sub>5</sub>*, *S<sub>7</sub>*, *S<sub>13</sub>*, *S<sub>15</sub>*).

**Mots clés:** produits laitiers traditionnels, Zebda, Lben, Dhan, bactéries lactiques, souches pathogènes, antagonisme.

## Abstract

In Algeria, as in various other countries around the world include indigenous dairy products whose manufacturing process stems from the cultural heritage of the population. These products are the issue of milk processing in order to prolong its period life. Among the Algerian traditional dairy preparations: Zebda, Lben, Dhan that can be sources of lactic acid bacteria inhibitory activity vis-à-vis pathogens. Therefore they constitute a line of defense by the production of lactic acid, hydrogen peroxide and bacteriocins.

Counts of the total mesophilic lactic flora and fauna of traditional dairy products were made. 17 lactic acid bacteria strains were isolated from the M17 media, MRS<sub>5.6</sub> and MRS<sub>6.2</sub> at incubation temperatures of 30 ° C and 45 ° C. These strains were identified to genera: *Lactobacillus* (5 strains), *Enterococcus* (4 strains), *Lactococcus* (1 strain), *Streptococcus* (7 strains).

The diameters of the inhibition zones of the seven eight pathogenic strains (*Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Candida albicans*) vary between 5mm and 40 mm, some strains are highly active against pathogenic bacteria compared to other strains (*S<sub>3</sub>*, *S<sub>4</sub>*, *S<sub>5</sub>*, *S<sub>7</sub>*, *S<sub>13</sub>*, *S<sub>15</sub>*).

**Keywords:** traditional dairy products, Zebda, Lben, Dhan lactic acid bacteria, antagonism, pathogenic strains.