

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE &
BIOCHIMIE

N° :



DOMAINE : SCIENCES DE LA NATURE
ET DE LA VIE

FILIERE : SCIENCES BIOLOGIQUES

OPTION : NUTRITION ET SCIENCE DES
ALIMENTS

Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique

Par:

Dakhouche ichrak et Djeddi cheyma

Intitulé

Isolement et identification des nouvelles souches lactiques
productrices de bactériocines à partir d'un produit laitier traditionnel
(**J'ben**) à la région de M'sial.

Soutenu devant le jury composé de:

Dr.Guetouache Mourad	Université M'sila	Rapporteur
Dr.Rahali Abdallah	Université M'sila	Président
Dr.Ariech mounira	Université M'sila	Examinatrice

Année universitaire : 2021/2022

Remerciement

Premièrement, nous remercions Dieu Tout-Puissant de nous avoir accordé la patience, le courage et l'aide nécessaires pour faire ce travail. À la fin de ce travail, nous sommes heureux d'exprimer nos sincères remerciements et notre gratitude à notre superviseur, le Dr Guetouache mourad , pour nous avoir accordé autant de son temps. Nous le remercions également pour ses encouragements et ses conseils constants. Les membres du jury dr. Rahali Abdallah et un merci spécial au Dr mounira ariech pour avoir accepté de se joindre au jury. Un grand merci également à nos collègues du master en nutrition et science des aliments .

Dédicace

Je dédie ce mémoire :

à mon Chérie « la source de ma force, ma vie et mon bonheur », à mon père { rachid djeddi } qui m'a soutenu sans hésitation Tout au long de mon cursus universitaire , que dieu le protège .



Mon père

A la femme de ma vie, mon modèle éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, la flamme de mon cœur (Boutbig L) , qui s'est toujours sacrifiée pour me voir réussir, que Dieu la protège.



Ma mère

À mes frères et mes sœurs « symbole de soutien moral et d'encouragement que Dieu les soutienne pour moi .



Mes très chères soeurs et mes frères

A mes nièces (Enas, Meryam et Esraa) mes proches, la supplication de l'innocence, de l'amour et des sourires m'a suffi comme le plus grand soutien à travers les difficultés.



Mes très chères nièces

Je remercie mon amie ichrak dakhouché pour son soutien et son amour, et pour se tenir côte à côte pour accomplir ce travail. Que Dieu te protège, mon amour et N'oubliez pas mes amis (Belaâda naima et nabi rokaia manal) Mes chers amis .



Mes chère amies

Mille mercis à la personne la plus chère à mon cœur, à ma chère et à mes yeux (saoudi. i) ♥

ÇhëyMā



Dédicace

<< Je remercie le bon dieu de m'avoir donné le courage pour réaliser ce travail et la patience pour aller jusqu'au bout du parcours de mes études Je dédie ce mémoire >>

* A Celui qui m'a toujours encouragé et soutenu durant toutes mes années d'études. Merci pour ton amour et ta confiance totale. très cher papa (Dakhouche i)

* A Celle qui m'a tant bercé, tant donné et tant enseigné, toi qui m'a guidé Dans le droit chemin, toi qui m'a appris que rien est impossible , Ma chère mama (kharkheche A).

* A mes chers frères et soeurs , vous êtes mon ombre et ma force la vie.

* A l'âme de ma pure soeur Laila, que Dieu te protège dans son plus haut paradis.

* Remerciements particuliers au Dr Ariech mounira , merci pour vos précieux conseils, votre gentillesse et votre belle humanité.

* À mes chères copine (Nabi rokai manal , Dahmani soumia, belaâda karima), je vous remercie beaucoup pour vos encouragements continus et un grand merci pour tous les moments que nous avons vécus ensemble.

* A ma chérie (cherfi N.A) , tu es la lumière de mes yeux.

*Je n'oublie pas de mentionner ma compagne et âme sœur, Belaâda Naima .Merci, Ola, pour tout ce que vous m'avez apporté d'aide, d'amour, de sincérité et d'amitié.

* A ma chérie binôme(cheyma Djeddi) que Dieu vous garde et vous benisse.



Résumé

Parmi les préparations lactières traditionnelle algérienne le j'ben . le j'ben traditionnel c'est un partie de l'alimentation humain fabriqué de plusieurs endroits de l'Algérie par plusieurs méthodes ,Ce travail a été réalisé dans le wilaya de M'sila ,cette étude concerne la caractérisation physico-chimique et microbiologique du j'ben .

les souches de *lactobacilles* ont été utilisant isolés à partir du j'ben traditionnels Leur identification phénotypique selon le profil morphologique et biochimique .

les analyses physico-chimiques montre que notre j'ben plus au moins acide . les analyses microbiologiques montrent qu'il contient des flores mésophile aérobie total et bactérie d'altération et absence total des bactéries pathogènes des germes indicateur d'une contamination fécale , la qualité hygiénique de j'ben traditionnelle est mauvaise mais la méthode de fabrication était bonne .

La recherche des bactéries lactiques productrice de bactériocine tel que *les lactobacilles* par la méthode de l'activité antibactérienne utilisant souche de référence *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®27853 a donné des résultats positives pour le souche étudiées , les produits laitiers traditionnels constituent une source de nouvelle souche antimicrobiennes.

mots clés : j'ben , bactériocine, isolement , identification , analyses microbiologiques , analyses physico-chimiques , qualité , bactérie lactique , hygiène.

Abstract

Among the traditional Algerian dairy preparations the j'ben. the traditional j'ben is a part of human food made from several places in Algeria by several methods, This work was carried out in the wilaya of M'sila, this study concerns the physico-chemical and microbiological characterization of the j'ben .

Lactobacillus strains were isolated from the traditional j'ben using their phenotypic identification according to the morphological and biochemical profile.

physico-chemical analyzes show that our j'ben more or less acidic. microbiological analyzes show that it contains total aerobic mesophilic flora and spoilage bacteria and total absence of pathogenic bacteria from germs indicating faecal contamination, the hygienic quality of traditional j'ben is poor but the manufacturing method was good.

The search for lactic bacteria producing bacteriocin such as *lactobacille* by the méthode of antibacterial activity using reference strain *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®27853 gave positive results for the strain studied, traditional dairy products constitute a source of new antimicrobial strain

Key words: j'ben, isolation of germs, identification, microbiological analyzes, physical and chemical analyzes, quality, lactic acid bacteria, hygiene.

ملخص

من بين منتجات الألبان الجزائرية التقليدية الجبن. الجبن التقليدي هو جزء من غذاء الإنسان المصنوع من عدة أماكن في الجزائر بعدة طرق ، وقد تم تنفيذ هذا العمل في ولاية المسيلة ، وتتعلق هذه الدراسة بالتوصيف الفيزيائي والكيميائي والميكروبيولوجي للجبن.

تم عزل سلالات *Lactobacillus* من سلالات جبن التقليدية باستخدام تعريفها الظاهري وفقاً للملف المورفولوجي والكيميائي الحيوي.

تظهر التحليلات الفيزيائية والكيميائية أن جبن لدينا أكثر أو أقل حمضية. تظهر التحليلات الميكروبيولوجية أنها تحتوي على فلورا هوائية متوسطة وبكتيريا متغيرة وغياب تام للبكتيريا المسببة للأمراض من الجراثيم مؤشر للتلوث البرازي ، الجودة الصحية لـ جبن التقليدية سيئة ولكن طريقة التصنيع كانت جيدة.

البحث عن بكتيريا اللاكتيك المنتجة للبكتيريا مثل العصيات اللبنية بطريقة النشاط المضاد للبكتيريا باستخدام سلالة مرجعية *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®2785 أعطت نتائج إيجابية للسلالة المدروسة ، منتجات الألبان التقليدية تشكل مصدرًا لسلالة جديدة من مضادات الميكروبات

الكلمات الرئيسية: جبن ، عزل الجراثيم ، تحديد الهوية ، التحليلات الميكروبيولوجية ، التحليلات الفيزيائية والكيميائية ، الجودة ، بكتيريا حمض اللاكتيك ، النظافة.

Sommaire

Remerciement.....	I
Dédicace	II
Résumé.....	III
Abstract.....	IV
Liste de abréviations	VI
Liste des Figures.....	VII
Liste des Tableaux	VIII
Introduciton générale	1

Partie 01: synthèse bibliographique

Chapitre I : Les produits laitiers traditionnelle

Historique	2
1- Les produits laitiers traditionnelle	2
1-1 Raib	3
1-2 Klila.....	4
1-3 Fromage traditionnel algérien Bouhezza.....	4
1-4 Leben	5
1-5 Smen ou D’Han.....	5
1-6 Zebda	6
1-7 j’ben	7
1-7-1 Définition de j’ben traditionnelle.....	7
1-7-2 Objectif.....	7
1-7-3 Fabrication du j’ben traditionnelle.....	8
1-7-4 Microflore de j’ben.....	8
1-7-5 Caractéristiques Microbiologique du “j’ben”	8
1-7-6 Caractéristiques physico-chimiques du j’ben traditionnelle	9

Chapitre II: les lactobacilles

1- Définition de Bactérie Lactique.....	9
2- Rôles des BL dans la fabrication	9
3- Méthode de détermination de la flore lactique du J’ben	10
4- Utilisation de bactérie lactique en industrie laitier	10
5- Classification des Certaine genres des Bactéries lactique et leur principale caractéristique	11
6- Définition des lactobacilles.....	12
7- Caractéristiques de genre Lactobacillus.....	12
8- Les Intérêts de lactobacille.....	13

9- Habitat de lactobacillus	13
Partie 02: Etude expérimentale	
Chapitre I: Matériel et Méthodes	
1- Prélèvement et préparation de l'échantillon de j'ben traditionnel	14
1-1 Milieu de culture , les solutions utilisées les réactifs et les souches indicatrices	14
2- Méthode Analytique	15
2-1 Analyse microbiologique de jben traditionnel	15
2-1 Dénombrement des bactéries lactiques (isolats)	15
2-3 Isolement et purification des souches de lactobacille	16
2-4 Caractérisation et identification de lactobacille	16
2-4-1 Examen microscopique	16
2-5-1 Recherche de catalase	17
3- Caractérisation physiologique et Biochimique	17
3-1 Croissance à différentes températures	17
3-2 Effet de Nacl et de pH	17
3-3 Type de fermentation	18
4- Test de l'activité antibactérienne	18
Chapitre II: Résultats et Discussion	
1-Analyse microbiologique de jben traditionnel	19
1-1 Dénombrement des lactobacilles	19
1-2 Dénombrement des FMAT	19
1-3 Repiquage de milieu MRS Liquide	20
1-4 Isolement et purification	21
1-5 Examen microscopique	22
1-6 Recherche de la catalase	23
2- Caractérisations physiologiques et biochimiques	23
2-1 Croissance à différentes température	23
2-2 Effet de Nacl et de pH	24
2-3 Recherche de type de fermentation	24
3-Test de l'activité antibactérienne	25
Conclusion générale	27
références bibliographiques	28
Annexes	

Liste de abréviations :

ATCC : American Type Culture Collection

FMAT : Flore Mésophiles Aérobie Totale

MRS : Man, Rogosa, Sharpe

P.C.A : Plate Count Agar

Lb (LB) : Lactobacillus

Subsp : Sous-espèce (subspecies)

UFC : Unité Formant Colonie par gramme et par millilitres

% : Pourcent.

pH: Potentiel d'hydrogène.

mn : minute

NaCl: chlorure de sodium

cm: centimètre

g: gramme

ml: millilitre

µl : micro- litre

°C : Degré Celsius

GN : Gélose Nutritive

n° : nombre

H : heures

S : souches

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène

CO₂ : Oxyde de carbone

Na₂ HPO₄ : Sodium hydrogen phosphate

KH₂PO₄ : Potassium dihydrogen phosphate

V : Volume

M : la masse

Liste des Figures :

N° Figure	Titre	Page
Figure 01	schéma de fabrication des produits laitiers traditionnels	03
Figure 02	Lait fermenté caillé	03
Figure 03	Klila	04
Figure 04	Fromage Bouhezza	04
Figure 05	Lben fabriqué dans la maison	05
Figure 06	Smen ou Dhan	05
Figure 07	Zebda – beldi	06
Figure 08	le j'ben , produit laitier traditionnel	06
Figure 09	Situation géographique de la zone d'étude (M'sila) (Google Maps).	14
Figure 10	Dénombrement des <i>lactobacilles</i> sur le milieu MRS à 37°C	19
Figure 11	Dénombrement de la flore mésophile totale sur le milieu P.C.A à 30°C	20
Figure 12	le repiquage de milieu MRS liquide	21
Figure 13	Aspect des colonies de bactéries <i>lactobacille</i> obtenues après 72 h d'incubation à 37°C sur milieu MRS (ensemencement en masse).	22
Figure 14	Observation microscopique des <i>lactobacilles</i> (Grossissement x 40) après coloration de Gram.	22
Figure 15	la Recherche de catalase	23
Figure 16	la croissance de <i>lactobacille</i> à 15°C et 45°C	23
Figure 17	Croissance en présence 4% et 8% de NaCl Et la croissance à ph=6.5 pH=9	24
Figure 18	Résultats de type hétérofermentaire des souches <i>LB</i> (MRS).	24
Figure 19	Les résultats de l'interaction entre les <i>lactobacilles</i> et le bactérie pathogène <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25

Liste des Tableaux :

N° Tableau	Titre	Page
Tableau 01	Classification des Certaine genres des Bactéries lactique et leur principale caractéristique	11
Tableau 02	Souche utilisée dans le test antimicrobien.	15
Tableau 03	Résultats de la numération de la microflore cultivable du j'ben (Milieu MRS)	19
Tableau 04	Résultats de la numération de la microflore cultivable du j'ben (Milieu PCA)	20
Tableau 05	critères d'identification des isolats lactique du groupe de <i>lactobacillus</i>	25
Tableau 06	Diamètre de la zone d'inhibition des <i>lactobacilles</i> inhibitrices contre bactérie pathogène (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	26

Introduction

Générale

Le lait est un liquide alimentaire, blanc et opaque, d'une saveur douce, d'une réaction ionique ou pH voisin de la neutralité, sécrété par les glandes mammaires des femelles mammifères comme la vache, la chèvre, et la brebis après la naissance du jeune. Il est un aliment complet mais du point de vue physicochimique est un produit très complexe. La connaissance des propriétés chimiques et physiques du lait dans tous ses détails facilite le processus de transformation en produits grâce à plusieurs traitements industriels (Lapointe, 2002).

En Algérie, comme dans plusieurs autres pays du monde, on trouve des fromages traditionnels Disponible en plusieurs types. Au moins dix types de fromages traditionnels de différentes régions du pays sont actuellement recensés tel que le Klila , le Bouhezza, le leben, la crème, Zebda et j'ben 'Il est clair que la consommation de lait de vache représente une proportion plus importante par rapport aux autres types de lait, ce qui indique que le lait de vache est devenu un aliment nutritif très connu, car il "contient une grande proportion de Protéines et graisses et leurs propriétés sensorielles particulières Le lait de vache est consommé frais ou après séchage.

(TABET, Ra)

Récemment , La fabrication du fromage était une véritable activité rurale, mais aujourd'hui elle devient de plus en plus courante dans les villes, que ce soit pour l'autoconsommation ou en crèmes ou crèmes pour la vente locale, ce qui signifie que le processus de fabrication du fromage a été modifié par des changements profonds visant à réduire temps de production ou pour maintenir la qualité du produit et améliorer sa sécurité, les propriétés organoleptiques du fromage sont complètement différentes du fromage traditionnel en raison de l'évolution qui se produit lors de la fabrication. Pour le fromage traditionnel, une enzyme est ajoutée pour accélérer la coagulation du lait prélevé sur l'estomac sec d'un veau, tandis que le fromage urbain est fabriqué principalement à partir de lait pasteurisé (Benkerroum et Tamime 2004).

L'objectif de ce travail est une synthèse de travaux scientifiques qui vise dans première étape isolement des *lactobacilles* à partir d'un produit laitier traditionnelles (j'ben) Dans une seconde étape détermination les propriétés physiques, chimiques et microbiologiques de j'ben traditionnelles et comme dernière étape identification et purification des *lactobacilles* à partir de j'ben.

Partie 01

synthèse

bibliographique

Chapitre I

Les produits laitiers traditionnelle

Historique :

Plupart des cultures à travers le monde connaissent le fromage, il s'agissait principalement d'une forme de conservation des principaux constituants du lait. Aujourd'hui, il s'agit plutôt d'un aliment, possédant des qualités nutritionnelles indéniables. Notre pays a une tradition bien établie sur les produits laitiers, transmise d'une génération à une autre à travers des siècles. Le lait, abondant durant certains moments de l'année est transformé en produits laitiers pour augmenter sa durabilité et sa valeur nutritive. Les fromages ont une longue histoire et ils sont traditionnellement fabriqués par des processus anciens sans addition intentionnelle de levains à partir du lait de vache, de chèvre, de brebis ou de mélanges. Le fromage naturel a toujours été une valeur sûre de l'alimentation humaine. En Algérie, au moins dix types de fromages traditionnels sont produits dans tout le territoire algérien, la majeure partie de ces produits appartient à la catégorie des fromages frais. Les plus connus sont seulement ceux portant les dénominations « j'ben » et « Klila ». Le j'ben est l'un des produits laitiers locaux le plus populaire (fromage traditionnel) et sa méthode traditionnelle de fabrication est encore en usage. Le j'ben est un fromage produit selon un protocole traditionnel à partir de lait cru de vache, de chèvre ou bien de brebis qui comprend la coagulation du lait en utilisant la présure végétale. Ce type de fromage sont très estimé par les consommateurs et pourrait être promu à l'échelle nationale et internationale, si elle était fabriquée à grande échelle en respectant leurs caractéristiques organoleptiques agréables, car il a un goût légèrement acide et des propriétés organoleptiques agréables.

1- Les produits laitiers traditionnelle :

Le lait et ses dérivés sont l'une des principales sources d'alimentation en Algérie. Le lait de vache contient les composants de base dont l'organisme a besoin pour sa construction, notamment des protéines, des minéraux et des vitamines. C'est une boisson avec une grande valeur nutritive, Plus la qualité de la nourriture est élevée, plus la consommation est élevée. Le lait de vache est considéré comme le principal composant de l'alimentation et de la production laitière, la production dépendant principalement du produit traditionnel. Parmi les produits laitiers traditionnels algériens : le leben, raib, Bouhezza, Zebda, takammert , d'han , j'ben et Klila etc...) (Mourad et Bettache 2020).

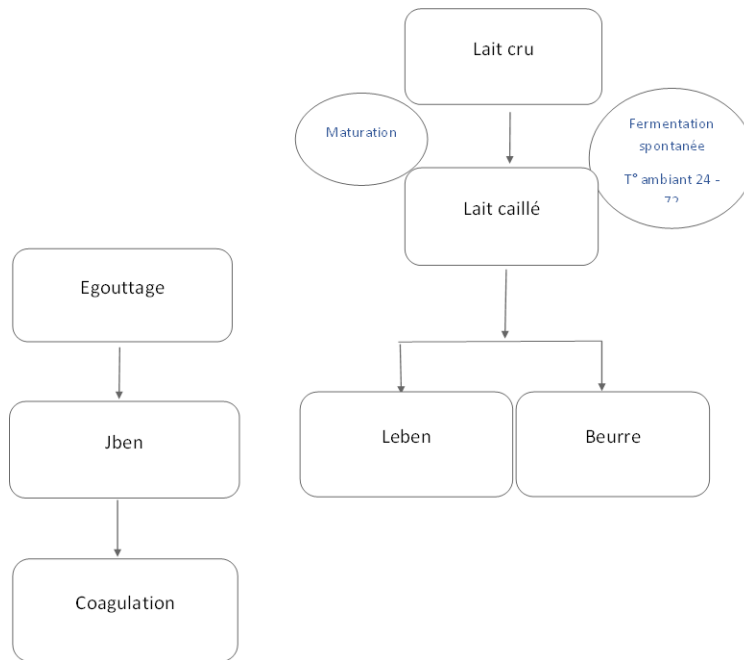


Figure 01 : schéma de fabrication des produits laitiers traditionnels (benkerroum et tamime 2004).

1-1 Raib :

Le « Raib » est un lait fermenté produit dans de nombreux pays méditerranéens et subsahariens. Le « Raib » est un lait caillé, traditionnellement obtenu après acidification spontanée à température ambiante du lait cru ; il est consommé tel quel ou transformé. La fermentation a été associée à des bactéries lactiques mésophiles appartenant aux genres *Leuconostoc* et *Lactococcus* naturellement présentes dans les laits crus (Bendimerad et al, 2012).



Figure 02 : Lait fermenté caillé. Rayeb

(fr.wikipedia.org/wiki/Rayeb).

1-2 Klila :

Le fromage Klila occupe une place socio-économique très importante en milieu rural et périurbain. C'est un fromage fermenté produit de manière empirique dans plusieurs régions d'Algérie. C'est le fromage traditionnel le plus populaire, et son savoir-faire artisanal est encore utilisé aujourd'hui. Le traitement consiste à chauffer modérément "LEBEN" (décrit plus loin) jusqu'à ce qu'il soit lisse, puis à l'égoutter dans de la mousseline. Le fromage obtenu se consomme tel quel, frais ou sec (Benamara et al, 2016).



Figure 03 : Klila

www.tsiwant.centerblog.net/7-laklila

1-3 Fromage traditionnel algérien Bouhezza :

C'est un fromage algérien traditionnel, local, à pâte molle des régions de l'est de l'Algérie, pratiqué spécifiquement chez les habitants de Chaouia. Le fromage est obtenu après transformation du lait en chekoua à base de peau de chèvre préalablement traitée avec du sel et des additifs successifs. Les processus de séchage, de salage et de maturation sont effectués simultanément dans le chekoua pendant un certain temps, au moins un mois (Boullouf et Zidoune 2017).



Figure 04 : Fromage Bouhezza

<https://www.mundoquesos.com/bouhezza-tradicional/>

1-4 Leben :

Le Leben est un produit laitier classé dans la catégorie des laits fermentés. Il est très apprécié. La préparation du leben est très simple et reste au niveau familial ou artisanal. Le lait a été laissé dans une terre cuite (rawaba) pot pour s'acidifier spontanément à température ambiante pendant une période comprise entre 24 heures et 72 heures. Après le barattage du raib, il a été laissé se séparer et recueillir plus ou moins une partie de la graisse sous la forme de beurre (Leksir et al, 2019).



Figure 05: Leben fabriqué dans la maison

www.commonswikimedia.org/wiki/File:Couscous_avec_lben.jpeg

1-5 Smen ou D'Han :

Smen ou d'Han est un beurre frais et traditionnel obtenu à partir de lait cru, de beurre ou de crème. C'est un patrimoine gastronomique faisant partie de l'alimentation algérienne. Il est fermenté en pots de quelques mois à plusieurs années selon les variables de lieu de stockage, d'humidité et de température. Il a de nombreuses utilisations dans le domaine de la cuisine,

comme ingrédient aromatisant pour améliorer le goût et l'arôme des plats traditionnels ainsi que dans le domaine médical (Boussekine et al, 2020).



Figure 06 : Smen ou D'Han

fr.wikipedia.org/wiki/Smen

1-6 Zebda :

Le beurre est un type traditionnel qui est produit à partir de lait frais ou de lait fermenté. Il est obtenu en secouant le lait et en le laissant de côté afin que la couche grasse du beurre flotte sur le visage et que le lait reste écrémé en dessous. Les méthodes traditionnelles de faire du beurre sont variées d'une région à l'autre. L'utilisation de chekoua est l'une des méthodes les plus connues, car elle est fixée au trépied et le déplace d'avant en arrière. Ce brassage provoque l'agitation du lait, ce qui conduit à la formation de graisse sous forme de globules. Les granules de beurre flottent à la surface et sont retirées à la main (Mourad et Bettache 2020).



Figure 07 : Zebda – beldi

<https://maroc.seminaire.com/lexique/beurre-beldi/>

1-7 j'ben :**1-7-1 Définition de j'ben traditionnelle :**

Le « J'ben » est le fromage frais le plus connu et consommé depuis fort longtemps aussi bien en milieu rural qu'en milieu urbain. Dernièrement, la consommation de ce produit s'est accrue suite à l'installation dans les villes d'un grand nombre de laiteries traditionnelles qui préparent le «J'ben» à partir du lait cru selon des procédures souvent artisanales (ADDA, 2020).



Figure 08 : le j'ben, produit laitier traditionnel

1-7-2 Objectif :

_ Les objectifs de cette étude se basent autour des points suivants :

- Isolement des *lactobacilles* à partir d'un produit laitier traditionnelle (j'ben).
- L'étude des caractéristiques physiologiques, biochimiques

Et microbiologique de j'ben traditionnelle

- identification et purification des *lactobacilles* à partir d'un produit laitier traditionnel (j'ben).

1-7-3 Fabrication du j'ben traditionnelle :

Le fromage frais j'ben est traditionnellement fabriqué à partir de lait de chèvre ou de lait de vache.

Les étapes de production de j'ben sont les suivantes :

- Faire chauffer le lait cru à feu doux
- Des fragments de l'enzyme "El Hakka" dans le lait sont imprégnés pour coaguler le lait.
- Faire chauffer le lait jusqu'à ce que le lait caillé et le lactosérum se séparent.
- Égouttez le caillé avec une mousseline
- Le coagulum obtenu est appelé j'ben et est placé dans un moule et conservé au réfrigérateur (Hamla et al, 2019).

1-7-4 Microflore de j'ben :

Le j'ben traditionnel comme tous les autres produits fermentés est caractérisé par une grande richesse en micro-organisme, Cependant, cette diversité dépend de l'exploitation, de la région, Pratiques et modes de production actuels des producteurs, la flore mésophile aérobie totale est très importante dans ce produit ($8.2 \cdot 10^8$ UFC /g). La microflore du j'ben est principalement dominé par la flore lactique (10^8 à 10^9 UFC /g). Les trois groupes lactiques qui forment cette flore se retrouvent presque proportionnellement égal :

5.1. 10^8 UFC/g *Lactococcus* 3.2 10^8 UFC/g *Lactobacillus* et 2.6. 10^8 UFC/g *Leuconostoc* (AROUS et KADOUN 2018).

1-7-5 Caractéristiques Microbiologique du "j'ben" :

La microflore de j'ben comprend plusieurs groupes et genres de micro-organismes, tels que les levures, les moisissures et les bactéries telles que les bactéries lactiques, les bactéries de détérioration et parfois les agents pathogènes. Le taux de micro-organismes présents dépend des conditions de fabrication du fromage et de la composition microbienne du lait de départ (Brahimi et Sedini 2018).

1-7-6 Caractéristiques physico-chimiques du j'ben traditionnelle :

Le fromage frais " j'ben " n'a pas de caractéristiques définies en raison de méthodes de préparation traditionnelles, essentiellement basées sur des connaissances acquises au cours d'une longue expérience. L'arôme, les propriétés organoleptiques et les propriétés physicochimiques du fromage dépendent des propriétés du lait cru, elles-mêmes dépendantes de la race de l'animal et de son type d'alimentation. En général, le pH ($< 4,2$) et l'acidité titrable ($> 0,9 \%$) sont les paramètres les moins variables pour le " j'ben ". Cependant, la matière sèche totale de " j'ben " est le facteur le plus variable car il dépend de la durée du d'égouttage. Puisque les lipides, le lactose et les protéines constituent les principaux constituants de tous les solides j'ben , ils sont directement affectés par les modifications des dits solides. Aujourd'hui, le j'ben est également fabriqué à partir de lait pasteurisé. Les propriétés finales du lait typique sont variables et influencées par la préparation du fromage (Bouadjib, 2013).

Chapitre II

les lactobacilles

1- Définition de Bactérie Lactique :

Les bactéries lactiques sont des micro-organismes bénéfiques pour l'homme, ces bactéries sont connues pour leur rôle dans la fermentation et la conservation des aliments, ainsi qu'un rôle majeur dans la préparation des produits laitiers. Les bactéries lactiques sont également utilisées pour saumerage le poisson, la viande et la salaison. Les bactéries lactiques sont de plus en plus impliquées dans l'amélioration du produit final par : La production d'arôme par l'utilisation des *Leuconostoc* qui sont capable de produire des composés aromatiques afin qu'elles puissent améliorer les qualités organoleptiques du fromage.

- La production de dioxyde de carbone facilite l'ouverture de certaines pâtes fromagères
- Modifier le goût par : • *Leuconostoc citrovorum*, qui donne au beurre un goût de noisette.
- Modifications de la structure et de la texture : • *Leuconostoc* synthétise des polymères à partir du saccharose, comme le dextran, qui peuvent augmenter la viscosité de certains sirops et jus. • *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* sous-espèce Bulgarie, homogénéité accrue des produits fermentés tels que le yaourt (Houria et al, 2010).

2- Rôles des BL dans la fabrication :

Les bactéries lactiques (LAB) jouent un rôle important dans la première étape de la transformation du lait, mais elles interviennent également dans la phase d'affinage. En plus d'être impliqué dans la formation du caillé lactique, un autre rôle des BL est de limiter la croissance de la flore indésirable dans les produits fermentés, notamment la croissance de *Staphylococcus aureus*. Par conséquent, choisir un levain qui inhibe naturellement *S. aureus* sera un bon moyen d'assurer la sécurité alimentaire. Cela nécessite une meilleure compréhension des phénomènes inhibiteurs et des réponses adaptatives de *S. aureus* lorsqu'il est cultivé en présence de BL (Cretenet, 2010).

La BL est introduite dans le lait sous forme de « levains » lactiques, également appelés « ferments ». Leur rôle dans la fabrication du fromage est principalement lié à deux aspects de leur métabolisme :

- Production d'acide lactique. Cet acide est un sous-produit de la fermentation et est un moyen de dégrader les sucres dans des conditions anaérobies (sans oxygène).

- Activité protéolytique (fractionnements des protéines). Les BL ne peuvent absorber et utiliser que les acides aminés libres. Peu abondant dans le lait ou en peptides courts (constitués de seulement quelques acides aminés) (ADDA, 2020).

3- Méthode de détermination de la flore lactique du J'ben :

Les méthodes d'appréciation de la flore lactique du J'ben ont été établies par approche classique soit par des cultures sur milieu M17 et MRS dépendantes (Dahou et al, 2015).

4- Utilisation de bactérie lactique en industrie laitier :

Les bactéries lactiques jouent un rôle important dans la fermentation des aliments. Elles peuvent synthétiser des substances antibactériennes nommées bactériocines qui sont utilisées dans la bio conservation des aliments (RABAH, 2010).

- Les bactéries lactiques font partie de l'alimentation humaine depuis l'Antiquité et sont impliquées dans la fermentation de nombreux aliments, modifiant ainsi le goût et la texture des aliments. D'autre part, les bactéries lactiques produisent des peptides et des molécules telles que l'acétoïne, l'acétaldéhyde, le diacétyl ou l'éthanol. Sans aucun doute, l'industrie laitière est le plus grand consommateur de fermentation Malo lactique commerciale pour la production de lait fermenté, de fromage, de crème et de beurre. Le lait fermenté *Lactobacillus* est à l'origine de nombreux produits différents, chacun avec son arôme, sa texture et ses caractéristiques de qualité spécifiques. Les bactéries lactiques sont également utilisées dans l'industrie chimique (production d'acide lactique), dans le domaine médical et dans l'industrie des additifs alimentaires (Latreche, 2016).

5- Classification des Certains genres des Bactéries lactique et leur principale caractéristique : (Bouadjib, 2013)

Genre	Groupe / Type de Fermentation	Espèce	Forme
<i>Lactobacilles</i>	Homo_fermentation Obligatoire Hétéro-fermentation facultatif Hétéro-fermentation Obligatoire	<i>Lb. Acidophilus</i> <i>Lb.delbrueckii</i> <i>Lb.Helveticus</i> <i>Lb. casei</i> <i>Lb. curvatus</i> <i>Lb. sake</i> <i>Lb.plantarum</i> <i>Lb.brevis</i> <i>Lb.kefir</i> <i>Lb.sanfransisco</i>	Bacilles
<i>Streptococcus</i>	Homo_fermentation	<i>S.pyogenes</i> <i>S.agalactiae</i> <i>S.mutans</i> <i>thermophile</i> <i>Streptococcus</i> <i>thermophilus</i>	Coques
<i>Bifidobacterum</i>	Acide acétique et lactique	//	Forme irrégulière
<i>Leuconostoc</i>	Hétéro-fermentation <i>Leuconostocaceae</i>	<i>Ln. Mesenteroides</i> <i>avec ces sous espèce mesenteroides cremoris et dextranicum et Ln. lactiset Ln. Pseudomesenteroides et Ln. paramesenteroides.</i>	Coques
<i>Lactococcus</i>	Homo_fermentation	<i>Lc. Lactis</i> <i>Lc. Cremoris</i>	Coques

Tableaux 01 : Classification des Certains genres des Bactéries lactique et leur principale caractéristique

6- Définition des *lactobacilles* :

Les lactobacilles sont des bâtonnets Gram-positifs, non sporulés, ou des *coccobacilles* avec une teneur en G + C d'ADN généralement inférieure à 50% en moles. Ils sont strictement fermentaires, aérotolérants ou anaérobies, aciduriques ou acidophiles et ont des besoins nutritionnels complexes (par exemple en glucides, acides aminés, peptides, esters d'acides gras, sels, dérivés d'acides nucléiques et vitamines). Ils ne synthétisent pas de porphyrines et sont donc dépourvus d'activités hème-dépendantes. Des souches de certaines espèces peuvent utiliser des porphyrines de l'environnement et présenter des activités de catalase, de réduction de nitrite ou même de cytochromes . La pseudo-catalase est formée dans les souches de *Lb. Mali*. Avec le glucose comme source de carbone, *les lactobacilles* peuvent être soit homofermentaires, produisant plus de 85 % d'acide lactique, soit hétérofermentaires, produisant de l'acide lactique, du CO₂, de l'éthanol (et/ou de l'acide acétique) en quantités équimolaires. En présence d'oxygène ou d'autres oxydants, des quantités accrues d'acétate peuvent être produites aux dépens du lactate ou de l'éthanol, moyennant quoi une mole supplémentaire d'ATP est gagnée via la réaction de l'acétate kinase. Ainsi, des variations dans les produits métaboliques finaux peuvent se produire

(The Genera of Lactic Acid Bacteria pp 19-54).

7- Caractéristiques de genre *Lactobacillus* :

Le genre *Lactobacillus* est quantitativement le plus important de genre du groupe lactique, il appartient à la famille *des lactobacillaceae*, *les Lactobacillus* ont des aspects variés allant du bacille long et fin (parfois incurvés), fréquemment associés en chainettes, ils sont catalase négative, immobiles, asporulés, développent à une température située entre 30 et 40 c° (Menad, 2018).

Le genre *Lactobacillus* a été subdivisé par ORLA-JENSEN en trois groupes et cette classification est encore utilisée en milieu industrie : (Tamime, 2002).

- Groupe I : comprend *les lactobacilles* homofermentaires thermophiles qui se développent à 45°C mais pas à 15°C. Les espèces les plus fréquentes dans l'alimentation (lait, yaourt, fromage) sont *Lb. Helveticus*, *Lb. Delbruecki*, *Lb. Acidophilus*.

●Groupe II : regroupe *les lactobacilles* homofermentaires mésophiles et peuvent être occasionnellement hétéro fermentaires en fonction du substrat. Les espèces les plus fréquentes dans l'alimentation sont *Lb. Casei*, *Lb. Curvatus*, *Lb. Sake* et *Lb. Plantarum*.

●Groupe III : ce sont *des lactobacilles* hétérofermentaires. Il comporte les espèces *Lb. Fermentum*, *Lb. Brevis* et *Lb. Sanfransisco*.

8- Les Intérêts de lactobacille :

Les lactobacilles sont également utilisés pour des préparations alimentaires fermentées. *Les Lactobacillus* est Faible pour plusieurs raisons, ils sont largement utilisés dans l'industrie, en laiterie, fromagerie, dans la fabrication de choucroute et interviennent dans les saumures et les viandes fermentée (salami) (Tannock, 2004).

9- Habitat de lactobacillus :

Les Lactobacillus ce sont des bactéries de gram positive se trouvent partout dans notre environnement et est toujours à présent dans notre type digestif, *les lactobacilles* sont présents dans les milieux riches contenant des substrats nutritifs glucidique tels que les muqueuses intestinales des animaux, des plantes, des animaux d'origine végétale, des produits fermentés et les eaux usées. Contrairement à certaines bactéries pathogènes qui peuvent provoquer des maladies. *Les lactobacillus* sont bénéfiques pour la santé, ils contaminants fréquemment les produits alimentaires et sont agents de d'aigrissement mais ils ne sont jamais pathogènes (Rebbeca et al, 2017).

Partie 02

Etude expérimentale

Chapitre I

Matériel et Méthodes

Cette étude a été réalisée dans le Laboratoire pédagogique de Microbiologie, Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Université de M'sila Mohamed Boudiaf.

1- Prélèvement et préparation de l'échantillon de j'ben traditionnel :

Nous avons pris le fromage traditionnel d'un restaurant appelé fromagerie de kerdada dans la région Maadher dans la commune - Bou Saâda (figure 9). Nous avons prélevé l'échantillon immédiatement après l'avoir préparé de manière traditionnelle, puis l'avons mis dans une boîte de Pétri stérile dans des conditions aseptiques possibles, puis l'avons apporté immédiatement au laboratoire, et l'échantillon a été placé au réfrigérateur à une température de 4 ou 5°C.



Figure 09 : Situation géographique de la zone d'étude (M'sila) (Google Maps).

1-1 Milieu de culture , les solutions utilisées ,les réactifs et les souches indicatrices :

1- Milieux de culture utilisée au cours de note travail dans laboratoire sont :

- Milieu MRS (Man Rogosa et Sharpe , 1960) préparé pour les cultures courantes est acidifié pour les lactobacilles.
- Milieu PCA (plate count agar) , gélose ou PCA standart pour le dénombrement des micro-organismes aérobies revivifiables aussi nommé FMAR.
- Milieu GN (La Gélose Nutritive) est un milieu largement utilisé pour la culture des micro-organismes peu exigeants. Elle est recommandée dans de nombreuses méthodes standardisées d'analyses des aliments, des laitages, de l'eau et d'autres produits.

d) Lait écrémé a 30% de glycérol : milieu de conservation des souches

2- Solution utilisées :

l'eau physiologie est une solution utilisée en bactériologie pour la préparation des dilutions.

3- les souches indicatrice :

Le bactéries pathogène (*Pseudomonas aeruginosa*) utilisée dans notre étude sont fournis par Institut Pasteur Laboratoire d'analyse médicale à M'Sila , La performance culturale est contrôlée à l'aide de souche suivante :

Tableau 02: souche utilisée dans le test antimicrobien.

Bactéries pathogènes	Gram	Code	Origine
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Négatif	ATCC® 27853	Institut Pasteur M'sila

2- Méthode Analytique :

2-1 Analyse microbiologique de j'ben traditionnel :

Les milieux de culture utilisés sont soit liquides, soit solides. Le MRS ((Man Rogos et Sharpe, 1960) à pH = 5 pour les cultures courantes est acidifie pour *les lactobacille*, on a pris 1g de masse suffisante de j'ben stérile, placé dans un tube stérile contenant 9 ml d'eau physiologique stérile et après homogénéisation , incubé à une à 37 °C pendant 24 heures. À l'aide d'une micropipette stérile, 1 ml de la solution mère est prélevé et inséré dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau physiologique stérile , ainsi s'obtient la dilution 10^{-2} . Les dilutions 10^{-3} jusqu'à 10^{-6} sont obtenues de la même manière (Guetouache *et al*, 2021).

2-1 Dénombrement des bactéries lactiques (isolats) :

a-*Lactobacille* :

Le milieu utilisé pour la culture et le dénombrement *des lactobacilles* est le MRS, le milieu estensemencé dans la surface (0.1 ml) , l'incubation se fait à 37 °C pendant 24 à 48 heures, les dilutions utilisés sont (10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}), Après incubation, les colonies ont été dénombrées et notées en UFC/ml, seules les boîte contenant 30 à 300 colonies ont été conservées.

b- La flore mésophile aérobie totale (FMAT) :

On utilise le gélose PCA (plate count Agar) , le milieu est ensemencé dans la masse (1 ml) , l'incubation pour 24 à 30 °C , après d'incubation Les colonies ont été dénombrées et enregistrées en tant qu'unités formant des colonies UFC/g (Guetouache et Guessas,2015).

-Nombre d'unités formatrices de colonies (UFC=N) par millilitre de J'ben est donné par la formule suivante:

$$N = \Sigma C / V (n1 + 0.1n2) d$$

Où

ΣC : est la somme des colonies comptées sur toutes les boîtes retenues de deux dilutions successives et dont une contient au moins 15 colonies et au plus 150 colonies pour les milieux spécifiques. Pour la gélose nutritive ces valeurs sont 30 et 300.

V :est le volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte, en millilitre

$n1$: est le nombre des boîtes retenues à la première dilution

$n2$: est le nombre des boîtes retenues à la seconde dilution

d : est le taux de dilution correspondant à la première dilution retenue (Bassole *et al*, 2014).

2-3 Isolement et purification des souches de lactobacille :

Après dénombrement et la lecture des résultats par observation macroscopique des colonies, l'isolement des souches purifiées se fait directement en cultivant des souches isolées de *lactobacille* à partir de boîtes pétri dans 10 tubes contenant du MRS liquide et en incubant au incubateur pendant à 37 °C pendant 24 h (Dahou *et al*, 2016).

2-4 Caractérisation et identification de lactobacille:

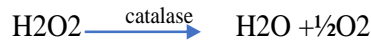
2-4-1 Examen microscopique :

L'identification des souches de *LB* est effectuée par une observation microscopique qui permet de définir les caractères morphologiques et organisation des *LB* (coloration de gram) les *lactobacille* sont généralement de forme régulières , immobiles , bâtonnets , gram positifs non sporulés , cependant la morphologie cellulaire varié considérablement de long, droit ou légèrement croissant - Bâtonnet en forme de coccobacille corynéformes, donc les Méthodes

phénotypique comprennent également l'étude du profil biochimique et propriété métabolique (Coeuret et al, 2003).

2-5-1 Recherche de catalase :

La catalase à été mise en évidence en émulsionnant la culture bactérienne à tester dans une solution fraîche d'eau oxygénée à 10 volumes, la présence de l'enzyme se manifeste par un dégagement de bulles de gaz , selon la réaction suivante :



- La méthode de test de catalase consiste à étaler une colonie sur une lame de verre sur laquelle on Ajoute une goutte du H_2O_2 (Guetouache *et al*, 2021).

3- Caractérisation physiologique et Biochimique :

3-1 Croissance à différentes températures :

L' emploi de ce test permet de distinguer les bactéries lactique mésophiles et thermophiles. Nous avons préparé 20 tubes contenant le MRS , après ensemencement du MRS liquide par des culture pures, nous incubons les tubes à des températures de 15°C, 45°C pendant 24-48 h, après ce délai, nous vérifions le milieu en évaluant la croissance (présence ou absence de trouble) (Sharma et al, 2013).

3-2 Effet de Nacl et de pH :

Deux milieux de MRS liquide ont été préparés et utilisés contenant différents concentration de Nacl : 4% de Nacl (4g par 100 ml de milieu) . et 8% de Nacl (8g par 100 ml de milieu).

les culture à testé ont été ensemencés sur des bouillons MRS Hypersalés à 4% et 8% de Nacl , après une incubation en anaérobie à 37°C pendant 24 h . Deux milieux de MRS liquide ont été préparés et utilisés contenant différents PH : 6,5 et 9, nous avons ajusté le PH à la fois au milieu de MRS par les solutions suivantes :

- ✓ KH_2PO_4 (0.1 M = 13.617 g/l).
- ✓ Na_2HPO_4 (0.1 M = 17.814 g/l) .
- ✓ pH= 6.5 (2V KH_2PO_4 , 1V Na_2PO_4) .
- ✓ pH= 9 (32V Na_2HPO_4 , 1V KH_2PO_4).

Les cultures à tester ont été ensemencées sur des bouillons MRS acidifiés à pH de 6.5 et 9 après une incubation en anaérobiose à 37°C pendant 24 h. L'apparition de trouble est en raison de la capacité de se croître.

3-3 Type de fermentation :

Dans des 10 tubes contenant des cloches de Durham on met 10ml de bouillons MRS pour les souches de *Lactobacille*, déjà ensemencées, puis incubées à 37°C pendant 24h à 48h.

4- Test de l'activité antibactérienne :

Cette méthode est fonctionnelle sur les bactéries lactiques inhibitrices (*Lactobacillus*) qui peuvent former de plus grande zone d'inhibition montrant la présence des substances qui ne peuvent se répandre dans le milieu de culture solide. Avec milieu gélose nutritive gélifiée coulé dans les boîtes de Pétri. Les S de *Lactobacille* sont repiquées dans un milieu MRS liquide et incubées pendant 24 h à 37 °C. Après l'incubation nous vidons les bouillons MRS de 10 tubes dans des tubes de centrifugation réalisés à 4000 tr / min pendant 15 minutes, ensemencés avec 1 ml de la suspension de souche cible dans la gélose de 2 boîtes préalablement préparées et laissées sécher. À l'aide d'une pipette Pasteur stérile, nous avons creusé des puits de 5 mm de diamètre sur la gélose nutritive qui sont remplis par la suite à 96 µL de souche *Lactobacille*, suivi par une incubation de 24 heures à 37 °C en anaérobiose (Boughachiche et al, 2012).

Chapitre II

Résultats et Discussion

1-Analyse microbiologique de j’ben traditionnel:

Les résultats des analyses microbiologiques sont représentés comme suit :

Dénombrement les Bacteries lactique :

Les résultats montrent que le j’ben traditionnel analysé est très riches en bactéries lactiques. Ils sont exprimés en UFC/ml et en UFC/g

1-1 Dénombrement des lactobacilles :

La dénombrements est effectués Sur gélose MRS solide à pH 5.6 . Les Résultats de dénombrement *des lactobacilles* sur gélose MRS résumés dans le tableau :

Tableau 03 : Résultats de la numération de la microflore cultivable du j’ben <Milieu MRS >.

Flore UFC/ml	<i>Lactobacille</i>
Résultat	2.62×10 ¹ ml
Origine	Jben traditionnelle (vache)
Mode d’emploi	Ensemencement en surface
Incubation	37°C pendant 24H-72H

Les lactobacilles capable de réaliser une fermentation lactique (production d'energie anaérobie) qui , en présence de glucides induit la formation d' acide lactique ‘ Et donc la croissance et la reproduction *des lactobacilles* dans le milieu, qui représente pour elles un milieu nutritif .



Figure 10 : Dénombrement *des lactobacilles* sur le milieu MRS à 37°C

1-2 Dénombrement des FMAT :

Le dénombrement des bactéries lactiques a été réalisé sur milieu PCA par la méthode des dilutions décimales (10⁻³ , 10⁻⁴, 10⁻⁵) ml.

Tableau 04 : Résultats de la numération de la microflore cultivable du j'ben < Milieu PCA >.

Flore UFC/g	FMAT
Résultat	2.75×10^{-1} g
Origine	j'ben traditionnelle (vache)
Mode d'emploi	Ensemencement en la masse
Incubation	30°C pendant 24H-72H

La charge microbienne très élevée de l'échantillon de j'ben traditionnelle, la flore mésophile aérobie totale c'est un indicateur de la qualité hygiénique donc l'énumération de cette flore pour les boîtes de Pétri pour le gélose Pca contient une contamination importante du j'ben traditionnel réceptionner par fromagerie de kerdada bou saada.

La raison de la présence de la flore mésophile aérobie totale en abondance dans le j'ben peut être due à son exposition à un groupe de dangers qui peuvent varier entre le manque de contrôle de certains micro-organismes, ou le matériel peut ne pas être bien stérilisé lors de la fabrication du j'ben traditionnel, et cela n'empêche pas qu'il soit contaminé par le fabricant ou la matière première qui le compose, tous ces facteurs nuisent à la qualité sanitaire du j'ben



Figure 11: Dénombrement de la flore mésophile totale sur le milieu P.C.A à 30°C

1-3 Repiquage de milieu MRS Liquide :

Dans des conditions stériles, nous avons prélevés des colonies isolées de la souche *lactobacille* à l'aide d'un anse de platine stérile , Nous avons ensemencé les colonies prélevées dans les boîtes dans dix tubes contenant du milieu MRS nouveau et stérile, où

chaque colonie a été placée dans un tube , Le repiquage du milieu MRS a permis aux colonies de continuer à croître à 37 °C pendant 24 heures.

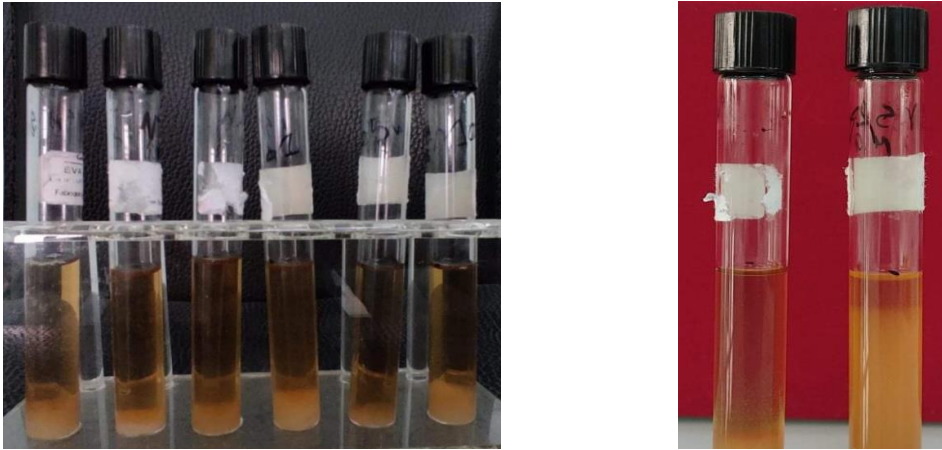


Figure 12 : Le repiquage de milieu MRS liquide

1-4 Isolement et purification :

Des colonies isolées et purifiées de différentes tailles sont apparues de couleur blanche ou laiteuse dans toutes les boites de 1 à 10, les souches ont été placées à une température de 37 °C pendant 24 heures. Les boites pétri n° 5-6-7--10 présentées ci-dessous ont été sélectionnées.

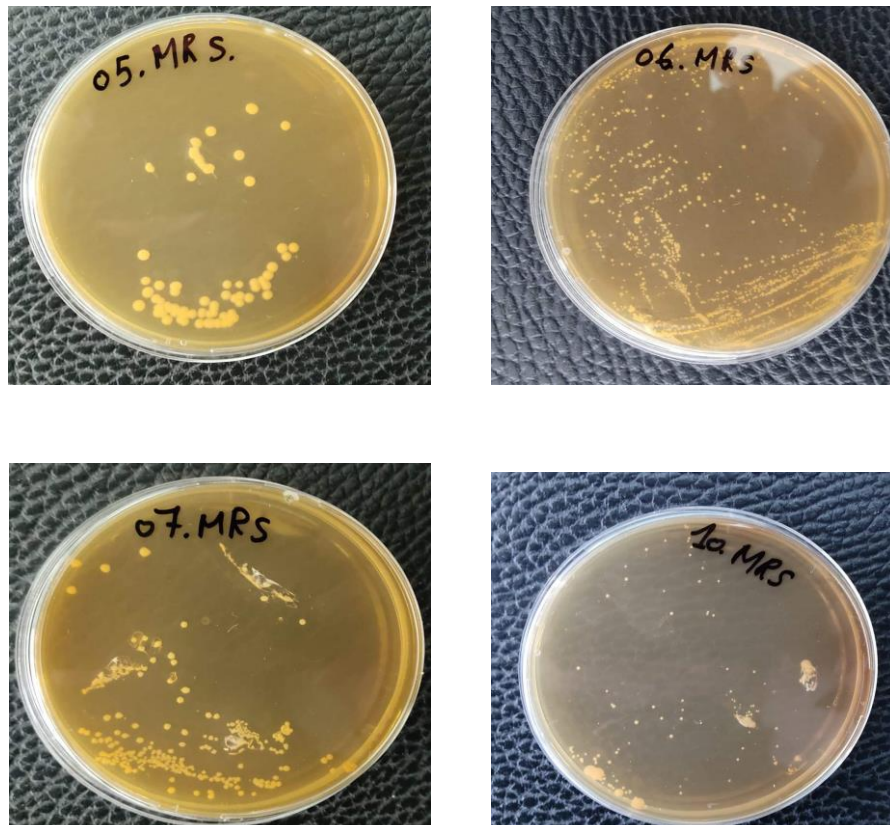


Figure 13 : Aspect des colonies de bactéries *lactobacille* obtenues après 72 h d’incubation à 37°C sur milieu MRS (ensemencement en masse).

1-5 Examen microscopique :

Après coloration de gram et l'observation microscopique des cellules, on trouve que les souches isolées sont Gram positif , en forme de bâtonnets ou coccobacilles disposé en chaînette plus ou moins longue .



Figure 14 : Observation microscopique des *lactobacilles* (Grossissement x 100) après coloration de Gram.

1-6 Recherche de la catalase :

L'absence de bulles d'air après l'ajout de l'eau oxygéné sur l'inoculum indique que les *lactobacilles* sont catalase négative. L'analyse de notre résultats montre que tous les isolats sont Gram positifs et catalase négative. les lactobacilles sont retenues comme étant des bactéries lactique.



Figure 15 : la Recherche de catalase

2- Caractérisations physiologiques et biochimiques :

2-1 Croissance à différentes température :

Tous les souche de *LB* poussent à 45 °C et à 15 °C , les isolats testés à 45 ° C sont qualifiés , sont des souche thermophiles , croissent de façon optimal

La croissance à 15 °C :

Les lactobacilles ont résisté à la chaleur faible et développé dans tous les tubes de milieu MRS.

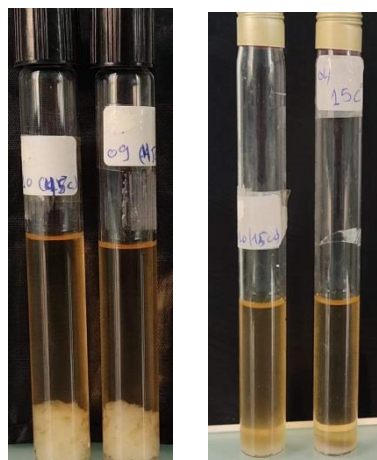


Figure 16 : la croissance de *lactobacille* à 15°C et 45°

2-2 Effet de Nacl et de pH :

La mise en culture des souches *des lactobacilles* à pH= 6.5 et pH= 9 , nous a permis d'évaluer leur aptitudes à croitre , les souche isolée de *lactobacilles* sont capable de croitre sur bouillon MRS à pH6.5 mais ils ne peuvent pas développé en pH=9 ▪ Tous les souches isolées de *LB* poussent dans la concentration de 4 % de Nacl , mais les souches dans la concentration de 8% d Nacl sont incapables de croitre.

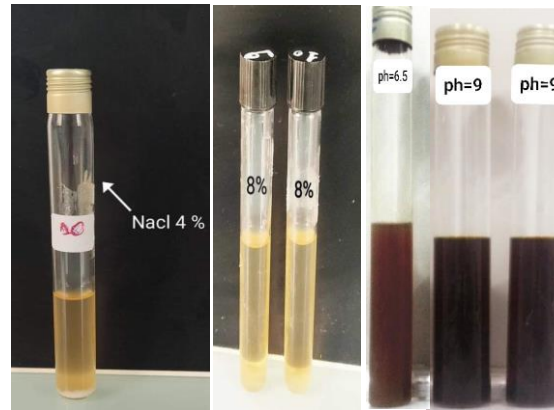


Figure 17 : Croissance en présence 4% et 8% de NaCl Et la croissance à pH=6.5 pH=9

2-3 Recherche de type de fermentation :

Cet test est effectué sur milieu MRS liquide avec cloche de durham qui permet de distinguer entre les souches isolées hétérolactique et homolactique , les 10 tubes nous mettons dans l'incubateur à 37° c pendant 24 h , Les résultats de notre travaille dis que les 10 souche de *lactobacille* sont hétérofermontaire c'est- à -dire il y a de dégagement de gaz Les résultats de l'étude du pouvoir fermentaire sont mentionnés dans le tableau (5)

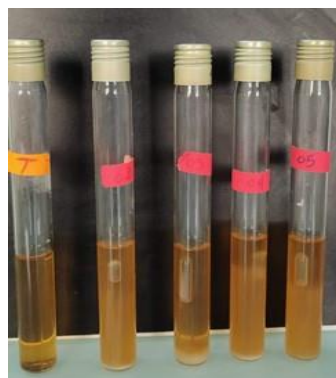


Figure 18 : Résultats de type hétérofermentaire des souches *LB* (MRS).

Tableau 05 : critères d'identification des isolats lactique du groupe de *lactobacillus*

Test/souches	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
Gram	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Forme	Bat	Bat	Bat	Bat	Bat	Bat	Bat	Bat	Bat	Bat
Catalase	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Croissance à 45°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Croissance à 15°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nacl (4%)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nacl (8%)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PH =6.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PH= 9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Type fermentaire	Het	Het	Het	Het	Het	Het	Het	Het	Het	Het

Bat : Bâtonnet **Het** : Hétérofermentaire + : Résultat positif - : Résultat négatif

S1 S10 : *Lactobacillus rhamnosus*

3-Test de l'activité antibactérienne :

Les résultats de l'activité antimicrobienne ont révélé que les souches de *lactobacillus* isolées du j'ben traditionnels produisent et exrètenet dans le milieu de culture des substances inhibitrices capable d'inhiber la croissance de bactérie pathogène et négatif telque *pseudomonas aeruginosa* . les résultats de l'interaction obtenez révélant la présence des zones claires autour de souche *Lactobacillus* vis-à-vis de germe cible testé .

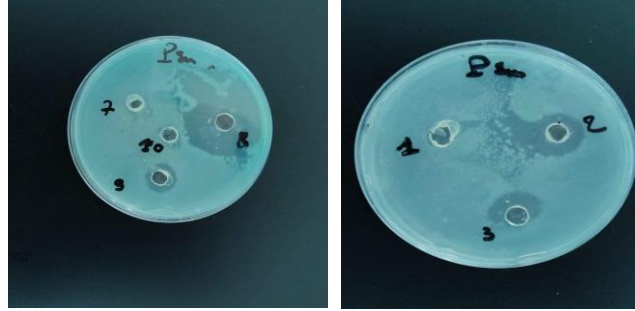


Figure 19 : Les résultats de l'interaction entre *les lactobacilles* et le bactérie pathogène *pseudomonas aeruginosa*.

Tableau 06 : le Diamètre de la zone d'inhibition des *lactobacilles* inhibitrices contre bactérie pathogène (*Pseudomonas aeruginosa*) par la méthode de diffusion des puits.

Souche	Diamètre			Moyenne
2	0.5 cm	0.7 cm	0.4 cm	0.53
3	0.8 cm	0.8 cm	0.9 cm	0.83
9	0.7 cm	0.7 cm	0.5 cm	0.63

Tableau 06 montre que : toutes les souches pures du genre *Lactobacillus* sont à l'origine zones d'inhibition importantes contre *Pseudomonas aeruginosa* où les diamètres sont compris entre $(0,4 \pm 0,9)$, donc d'après les résultats, *Lactobacillus* est capable de synthétiser des substances inhibitrices qui ont une activité antibatérienne et sont actives sur les bactérie pathogène à Gram-négatives .

Conclusion

générale

Les bactéries lactiques appartiennent à un groupe de bactéries bénéfiques, elles réalisent la fermentation lactique c'est-à-dire une réaction de transformation du lactose en acide lactique. Elles se développent donc en milieu acide, à des pH inférieurs

Elles interviennent dans l'industrie laitière et dans la fermentation de nombreux autres produits alimentaires.

Nous avons identifié et isolé des bactéries de *Lactobacillus* de l'origine de j'ben traditionnelle de la région de Maader Bou Saada, les isolats ont été caractérisés par leur forme de bâtonnet, Gram positif, catalase négative. Les identifications de souche de *Lactobacillus* comprennent des tests physiologiques et biochimiques.

Les *Lactobacillus* isolés ont été étudiés pour déterminer leur activité microbienne vis-à-vis de la souche *Pseudomonas aeruginosa*.

Après les résultats de la nature d'un agent antibactérien, on a constaté que les souches isolées de *Lb* produisent des bactériocines inhibant la croissance de la souche cible (*Pseudomonas aeruginosa*).

Grâce à notre travail sur les *Lactobacillus*, nous avons trouvé un nouveau type de souche lactique poussé à basse température 15°C.

Ces résultats nous permettent d'ouvrir des perspectives d'avenir

- la possibilité de développer une nouvelle souche, ils ont la capacité d'exercer une activité antimicrobienne vis-à-vis des souches pathogènes
- ouvrir la voie à d'autres travaux sur la purification des substances inhibitrices produites par les souches *Lactobacillus*.

Référence

Bibliographique

A ● **ADDA, CHERIFA.(2020)**, Etude de la microflore du lait ferment traditionnel (Jben) recherche de souche de bactéries lactique productrices de bactériocines, Mémoire de fin d'études Master en sciences biologiques , Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, P 12.

● **AROUS, Racha; KADOUN, Ikram , (2018)**.Caractérisation et étude comparative entre le Djben traditionnel et le fromage industriel (vache qui rit), Mémoire de Fin d' Etudes En vue de l'obtention du diplôme de Master en Sciences Biologiques, Université de BLIDA -1- , p 10.

● **ADDA, CHERIFA.(2020)**, Etude de la microflore du lait ferment traditionnel (Jben) recherche de souche de bactéries lactique productrices de bactériocines, Mémoire de fin d'études Master en sciences biologiques , Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, P 9.

B ● **Benkerroum, N., & Tamime, A. Y. (2004)**. Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben and smen) to small industrial scale. Food Microbiology, 21(4), 399-413

● **Bendimerad, N., Kihal, M., & Berthier, F. (2012)**. Isolation, identification, and technological characterization of wild leuconostocs and lactococci for traditional Raib type milk fermentation. Dairy science & technology, 92(3), 249-264.

● **Benamara, R. N., Gemelas, L., Ibri, K., Moussa-Boudjemaa, B., & Demarigny, Y. (2016)**. Sensory, microbiological and physico-chemical characterization of Klila, a traditional cheese made in the south-west of Algeria. African Journal of Microbiology Research, 10(41), 1728-1738.

● **Boullouf, A., & Zidoune, M. N. (2017)**. Etude du pouvoir technologique de quelques bactéries lactiques du fromage traditionnel Bouhezza.

● **Boussekine, R., Merabti, R., Barkat, M., Becila, F. Z., Belhoula, N., Mounier, J., & Bekhouche, F. (2020)**. Traditional Fermented Butter Smen/Dhan: Current Knowledge, Production and Consumption in Algeria. Journal of Food Research, 9(4), 71-82.

● **Brahimi Abderrahmane , Sedini Mohamed Amine.(2018)**, Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées d'un produit laitier traditionnel « Jben » , Mémoire de Fin d'

Etudes En vue de l'obtention du diplôme de Master en Sciences Biologiques, Université de TLEMCEM ,P 08

- **Bouadjib,S.(2013).**Etude physico-chimique du produit laitier traditionnel du Sud algérien «Jben» Recherche du pouvoir antimicrobien des bactéries lactiques, Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie, Université Abou Bekr Belkaid,p 11

- **BASSOLE, H., KABORE, Z., & TRAORE, A. (2014).** ETUDE DES PROFILS BACTERIOSTATIQUES ET BACTERICIDES D'EXTRAITS VEGETAUX VIS-A-VIS DE GERMES PATHOGENES IMPLIQUES DANS LA CONTAMINATION DES DENREES ALIMENTAIRES D'ORIGINE ANIMALE. Vol.03 N° 1, 32-39.

- **Bouadjib,S.(2013).**Etude physico-chimique du produit laitier traditionnel du Sud algérien «Jben» Recherche du pouvoir antimicrobien des bactéries lactiques, Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie, Université Abou Bekr Belkaid,p 13 14 .

- **Boughachiche, F., Reghioua, S., Zerizer, H., & Boulahrouf, A. (2012, March).** Activité antibactérienne d'espèces rares de Streptomyces contre des isolats cliniques multirésistants. In Annales de Biologie Clinique (Vol. 70, No. 2, p. 169).

C● **Cretenet, M. (2010).** Interactions Staphylococcus aureus–Lactococcus lactis in situ: Approche transcriptomique de leur physiologie, seuls et en interaction, dans la matrice fromagère (Doctoral dissertation, AGROCAMPUS OUEST).

- **Coeuret, V., Dubernet, S., Bernardeau, M., Gueguen, M., & Vernoux, J. P. (2003).** Isolation, characterisation and identification of lactobacilli focusing mainly on cheeses and other dairy products. Le Lait, 83(4), 269-306.

D● **DAHOU, A., HOMRANI, A., BENSALEH, F., BEKADA, A., & MEGHOUFEL, N. (2016).** Caractérisation phénotypique et génotypique de deux Lactobacillus isolés d'un fromage traditionnel frais type J'ben. Afrique SCIENCE, 12(6), 14-22)

- **Dahou, A., Homrani, A., Bensaleh, F., & Medjahed, M. (2015).** La microflore lactique d'un fromage traditionnel Algérien «type j'ben»: connaissance des écosystèmes microbiens laitiers locaux et de leurs rôles dans la fabrication des fromages. Afrique Science, 11(6), 1-13).

G• **Guetouache Mourad, Faïd Amina & Mebarki Meryem. (2021).** Characterization and Identification of Lactobacilli from Raw Goat's Milk Came from the Rural Area of the Province of Djelfa in Algeria. IAR Jr. Clnc. Med Biochem. 1(1) 21-30.

• **Guetouache, M., & Guessas, B. (2015).** Characterization and identification of lactic acid bacteria isolated from traditional cheese (Klila) prepared from cows milk. African Journal of Microbiology Research, 9(2), 71-77).

H• **Hamla, H., Belgroune, K., & Medjoudj, H. (2019).** Fabrication et suivi des paramètres physico-chimiques et microbiologiques de Jben et Klila fabriqués à partir du lait de vache et de chèvre.

• **Houria, Z., Aïcha, H., & Amel, B. (2010).** UTILISATION DES BACTERIES LACTIQUES DANS LE DOMAINE AGRO-ALIMENTAIRE (Doctoral dissertation, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila).

L• **Lapointe-Vignola, C. (2002).** Science et technologie du lait: transformation du lait. Presses inter Polytechnique.

• **Leksir, C., Boudalia, S., Moujahed, N., & Chemmam, M. (2019).** Traditional dairy products in Algeria: case of Klila cheese. Journal of Ethnic Foods, 6(1), 1-14.

• **Latreche, B. (2016).** Caractérisation des bactéries lactiques isolées du beurre cru, évaluation de leurs aptitudes technologiques et leur utilisation dans la fabrication de la crème sure .

M• **Mourad, G., & Bettache, G. (2020).** Various Traditional Dairy Products in Africa and Algeria. Journal of Nutrition and Food Security.

• **Menad, N. (2018).** Effet antagoniste des bactéries lactiques isolées à partir du lait de vache vis à vis de salmonella sp.thèse de doctorat. Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie ,196p.

R• **Rebecca M. Duar, Xiaoxi B. Lin, Jinshui Zheng, Maria Elena Martino, Théodore Grenier, María Elisa Pérez-Muñoz, François Leulier, Michael Gänzle, Jens Walter,**

Lifestyles in transition: evolution and natural history of the genus *Lactobacillus*, FEMS Microbiolog Reviews, Volume 41, Issue Supp_1, August 2017, Pages S27–S48.

- **RABAH, N. (2010)**. Etude du potentiel des bactéries lactiques pour leur utilisation en industrie laitière (Doctoral dissertation, Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella).

S● **Sharma, P. K., Roy, R., Sathiavelu, M., & Arunachalam, S. (2013)**. Study of probiotic and antioxidant activity of *Lactobacillus* spp. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences, 4(4), 809-819.

T● **Tamime, A. Y. (2002)**. Microbiology of starter cultures. ROBINSON, RK Dairy Microbiology Handbook, 3, 261.

- **TABET, Rachid** . Caractérisation biochimique et évaluation de la qualité microbiologique d'un fromage artisanal « Jben » fabriqué dans les régions de l'est Algérien).Diplôme Doctorat , Université de Annaba - Badji Mokhtar . Département de Biochimie.

- The Genera of Lactic Acid Bacteria pp 19-54).

- **Tannock, G. W. (2004)**. A special fondness for lactobacilli. Applied and environmental microbiology, 70(6), 3189-3194.

Les sites :

- <https://maroc.seminaire.com/lexique/beurre-beldi/>

- <fr.wikipedia.org/wiki/Smen>

- <https://www.mundoquesos.com/bouhezza-tradicional/>

- <fr.wikipedia.org/wiki/Rayeb>

- www.commonswikimedia.org/wiki/File:Couscous_avec_lben.jpeg

- www.tsiwant.centerblog.net/7-laklila

Annexes

I) MILIEUX DE CULTURES :

1. Gélose MRS (de De Man Rogosa et Sharpe, 1960) : est utilisée pour la culture et le dénombrement des *Lactobacillus* dans les produits laitiers et les autres produits alimentaires ainsi que dans les produits destinés à l'alimentation animale.

Ingrédients	Composition g/l
● Polypeptone	10.00
● Extrait de viande	10.00
● Extrait autolytique de levure	05.00
● Glucose	20.00
● Tween 80	01.08
● Phosphate de sodium	02.00
● Acétate de sodium	05.00
● Citrate d'ammonium	02.00
● Sulfate de magnésium	00.20
● Sulfate de manganèse	00.05
● Agar-agar bactériologique	15.00
● Eau distillée (q. s. p) : 1000 ml de Milieu	//
● Autoclavage: 121 °C pendant 20 minutes.	
● pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 5.7 ± 0.1	

2. Gélose PCA (Plate Count Agar) : est utilisée en bactériologie alimentaire pour le dénombrement des bactéries aérobies psychotrophes, mésophiles dans le lait, les viandes, les produits à base de viande, les autres produits alimentaires.

Ingrédients	Composition g/l
● Tryptone	05.00
● Extrait autolytique de levure	02.50
● Glucose	01.00
● Agar-agar bactériologique	12.00
● Eau distillée (q. s. p) : 1000 ml de Milieu	//
● Autoclavage: 121 °C pendant 20 minutes.	
● pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7.0 ± 0,2	

3-Gélose Nutritif (GN) : est un milieu largement utilisé pour la culture des micro-organismes peu exigeants. Elle est recommandée dans de nombreuses méthodes standardisées d'analyses des aliments, des laitages, de l'eau et d'autres produits.

Ingrédients	Composition g
● Peptone	5.0
● Extrait de viande	1.0
● Extrait de levure	2.0
● Chlorure de sodium	5.0
● Agar	15
● pH	7.4
pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 6,8 ± 0,2.	

II) Solution :

1-Eau physiologie :

Ingrédients	Composition (g , ml)
● Eau distillée	1000ml
● Nacl	9 g

Coloration de Gram :

porter des gants en premier

1-Près d'un bec Bunsen : on prélève un frottis des bactéries de la culture à l'aide d'un anse de platine et placez-le sur une lame. Nous le passons sur un bec Bunsen pour sécher la lame . Dans cette étape, tout est stérile.

2. Nous avons recouvert la lame d'alcool pour fixer le frottis.

3. Inclinez la lame, versez dessus du violet de gentiane et laissez agir 1 minute. Rincez- le avec de l'eau distillée.

4. Nous avons incliné la lame et l'avons recouverte de la solution de Lugol. Laissez agir 30 secondes puis rincez avec de l'eau distillée.

5. Versez quelques gouttes d'alcool sur la lame puis rincez-la à l'eau distillée.

6. Nous avons incliné la lame et recouvert de fushin pour éviter les Frottis. Laissez-le pendant 10-20 secondes, puis rincez-le avec de l'eau distillée. Nous répétons cette manipulation pour chaque diapositive. Observer avec un objectif(Grossissement x 100) , en cas d'immersion dans Huile d'immersion.