

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Bejaia

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie appliquée
Filière : Biologie
Option : Microbiologie alimentaire et santé



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Etude de la qualité physico-chimique et
microbiologique du l'ben produit
traditionnellement dans trois wilayas
(Béjaia, Sétif et Tizi Ouzou). Isolement et
identification partielle de bactéries
lactiques.**

Présenté par :

Allouache Hayat & Hanouz Katia

Soutenu le : **17 Juin 2015**

Devant le jury composé de :

M^r:Bendjedou Kamel

Mme:Faradji-Hamma Samia

M^{me} Louailache-Titelli Fatiha

MCB

MCB

MAA

President

Encadreur

Examineur

Année universitaire : 2014 / 2015

Remerciement

Avant tout nous remercions Dieu, le tout puissant, de nous avoir donné, le courage, la force, la santé et la persistance.

*Nous adressons nos vifs remerciements à notre promotrice **M^{me} Faradji-Hamma Samia** de nous avoir proposer ce thème, pour ses orientations et son suivi durant la période de la réalisation de ce travail.*

*Nous tenons à remercier vivement **M^r Benjedou Kamel** qui nous a fait un immense honneur d'avoir accepter de présider le jury.*

*Nos reconnaissances remerciements s'adressent également à **M^{me} Loualiache Titelli Fatiha** qui a accepté d'évaluer et d'examiner ce travail.*

*Un remerciement très particulier à **M^{elle} Tabti Naima** ingénieure de laboratoire de BCP pour ces conseils, ces soutiens et son infini gentillesse.*

*Aux responsables de laboratoire de contrôle de qualité et de conformité **SNC PREVOLAB** de nous avoir accueilli au sein de leur laboratoire et mettre à nos disposition le matériel nécessaires pour effectuer les analyses physico-chimiques des échantillons de l'ben.*

*Nous adressons nôtres reconnaissances à **M^{elle} Kadri Sabrina** et à **M^{elle} Ouaret Narimene** qui étaient toujours avec nous durant les moments difficiles de nôtre pratique.*

Nos très spéciaux remerciements reviennent à nos parents, nos familles Allouache et Hanouz et à tout nos amis pour leurs encouragements et leurs compréhensions.

Enfin, nous ne pouvons pas terminer sans remercier tous nos camarades de la promotion microbiologie alimentaire et santé (2014 /2015), on vous souhaite tout le bien et toute la réussite.

Merci à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Louange à Dieu, le tout puissant qui ma donné la force et le courage d'avoir accomplir ce travail, dédier à

Mes chers parents qui ont été toujours à mes cotés pour me soutenir, me donner le courage et un climat idéal de travail. Merci beaucoup **papa** et **maman**, je vous aime, que dieu vous garde et vous protège.

Mes **chers frères** et **chères sœurs**, ainsi que **leurs époux** .Merci pour votre aide et vos encouragements.

Ma petite chère sœur **Massika**, que je trouve toujours à mes cotés dans le meilleur et le pire

Merci Massika je te souhaite tout le bien.

Mes neveux et nièces : **Mohand, Naila, Assalas, Rayène D, Hanane** et **Rayène A** que leur avenir soit plein de joie et de réussite.

Ma binôme et chère amie **Katia**, avec qui j'ai partagé des moments difficiles et des moments agréables le long de ce travail.

Mes chères amies : **Fatiha, Nabila, Sabrina** et **Narimène** et à toutes les filles de la promotion MAS (2014 /2015).

A vous tous...Merci

Hayat

Dédicaces

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

A

Celui qui ma toujours encouragé et soutenu durant toutes mes années d'études.

Merci pour ton amour et ta confiance totalA toi très cher papa.

A

Celle qui ma tant bercé, tant donné et tant enseigné, toi qui ma guidé dans le droit chemin ; toi qui ma appris que rien est impossibleA toi très cher maman.

A

Mes chers frères : Hamza et Mehdi dont je lui souhaite la réussite au Bac.

A

Mes tantes et oncles

A

Ma très chère amie et binôme Hayat , avec qui j'ai partagé des moments difficiles et des moments agréables durant la réalisation de ce travail.

A

Mes chers amies :narimene ,sabrina ,fatiha,nabila et toutes les filles de la promotion MAS(2014/2015) .

Enfin a tous ceux qui aiment la science.

Katia

Sommaire

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction01

Synthèse bibliographique

I. Le lait02

I.1. Le lait destiné à l'alimentation humaine02

I. 2. Lait cru de vache et sa composition physico- chimique.....02

I.3. Caractéristiques physico-chimiques du lait cru de vache.....03

I.4. La microflore du lait.....03

I.4.1 Flore originelle (indigène)04

I.4.2.La flore de contamination :.....04

I.4.2.1. La flore pathogène04

I.4.2.2. La flore psychrotrophe04

II. Les produits laitiers traditionnels.....05

II.I. Le l 'ben05

II.I.1. La transformation du lait en l'ben.....05

II.I.2. La qualité physico-chimique du l'ben05

II.I.3. La qualité microbiologique du l'ben06

III.Les bactéries lactiques07

III.1. Définition et principaux caractères des bactéries lactiques	07
III.2. Identification et classification des bactéries lactiques :.....	08
III.3. Intérêt des bactéries lactiques :.....	08
III. 3.1. La fermentation lactique :.....	08
III.3.2. La production de composés antagonistes :.....	08
III.3 .3 Propriétés probiotiques	09

Matériel et méthodes

I. Lieu et durée du travail	10
II. Etude de la qualité physico-chimique et microbiologique du l'ben	10
II.1 Echantillonnage	10
II.2 Etude de la qualité physico-chimique	10
II.2.1.Mesure du pH	11
II.2.2.Mesure de l'acidité Dornic	11
II.2.3.Mesure de taux de la matière grasse (MG)	12
II.2.4.Mesure de la densité	12
II.3.Etude de la qualité microbiologique	13
II.3.1 .Préparation des dilutions décimales	13
II.3.2.Analyses microbiologiques des échantillons	14
II .3.3. Tests confirmatifs des tests présomptifs :.....	15
II.3.3.1Confirmation de présence des coliformes fécaux (<i>Escherichia coli</i>)	15
II .3.3.2.Confirmation de présence des streptocoques fécaux	16
II.3.3.3Confirmation de présence du <i>Staphylococcus aureus</i>	16
III. Identification des bactéries lactiques :.....	17
III. 1. Isolement et purification des bactéries lactiques	17

III.2.2 Tests sélectifs des isolats des bactéries lactiques	17
III.2.2.1. Coloration de Gram	18
III.2.2. Test de catalase	18
III.2.3. Conservation des isolats des bactéries lactiques	18
III.2.3.1. La conservation à courte durée	18
III.2.3.2. La conservation à longue durée	18
III.2.4. Revivification des isolats de bactéries lactiques.....	19
III.2.5. Tests d'identification biochimiques des isolats des bactéries lactiques	19
III.2.5.1. Test de production du gaz (CO ₂).....	19
III.2.5.2. Test de croissance à différentes températures.....	20
III.2.5.3. Test de la thermorésistance.....	21
III.2.5.3. Test de croissance dans différentes valeurs du pH	21
III.2.5.4. Test de croissance dans différentes concentration de NaCl	22
III.2.5.5. Tests de fermentation des sucres	22

Résultats et discussion

I. Analyses physico-chimiques.....	24
I.1. Mesure de PH.	24
I.2. Mesure de l'acidité Dornic	25
I.3 : Mesure des taux de matière grasse	26
I.4. Mesure de la densité	26
II. Analyses microbiologiques	27
II.1. Dénombrement de la FTAM	27
II.2. Dénombrement des levures et des moisissures	28
II.3. Dénombrement des bactéries lactiques	29

II.4.Dénombrement des coliformes totaux.....	30
II.5.Recherche d'Escherichia coli.....	31
II.5.Dénombrement des streptocoques totaux et recherche des streptocoques fécaux.....	32
II.6.Dénombrement des staphylocoques et recherche de <i>Staphylococcus aureus</i> ...	33
II.8.Dénombrement des Clostridium sulfito- réducteurs	34
II.9.Recherche de <i>Salmonella</i>	35
III. Identification des bactéries lactiques	36
III.1.Etude morphologique	36
III.2Etude microscopique	37
III.3.Identification des bactéries lactiques de forme cocci	38
III.3.1 Résultats des tests d'identification des lactocoques.....	39
III.3.2. Résultats des tests d'identification des streptocoques.....	41
III.3.3. Résultats des tests d'identification des pedicoques	42
III.3.4. Résultats des tests d'identification des leuconostocs.....	43
III.4 Résultats des tests d'identification des lactobacilles	45
Conclusion.....	49

Références bibliographiques

Annexes

Liste des tableaux

Tableau I : Principaux constituants physico-chimiques du lait cru de vache.....	02
Tableau II : Caractéristiques physico-chimiques du lait cru de vache	03
Tableau III : La flore indigène du lait.....	04
Tableau IV : Qualité physico-chimique du l'ben.....	05
Tableau V : La microbiologie du l'ben.....	06
Tableau VI : Principaux caractères des bactéries lactiques.....	07
Tableau VII : Dénombrement et /ou recherche des flores dans le l'ben.....	15
Tableau VIII : Tests de confirmation de présence de <i>S.aureus</i>	17
Tableau IX : Les espèces de genre <i>Lactococcus</i>	41
Tableau X : Les espèces de genre <i>Streptococcus</i>	42
Tableau XI : Les espèces de genre <i>Pediococcus</i>	43
Tableau XII : Les espèces de genre <i>Leuconostoc</i> :.....	44
Tableau XIII : Les genres et les espèces des isolats en forme cocci	45
Tableau XIV : Les espèces de genre <i>Lactobacillus</i>	48

Liste des figures

Figure 01 :pH-mètre HANNA pH 211.....	11
Figure 02 : Mesure de l'acidité Dornic.....	11
Figure 03 : Appareil de Gerber.....	12
Figure 04 : Centrifugeuse Funke-Gerber.....	12
Figure 05 : Préparation des dilutions décimales.....	13
Figure 06 : Conservation des bactéries lactiques dans des tubes Falquons.....	19
Figure 07 : Test de production de CO ₂	19
Figure 08 : Test de croissance à différentes températures.....	20
Figure 09 : Test de croissance à différentes valeurs de pH.....	21
Figure 10 : Test de croissance à différentes concentration de NaCl.....	22
Figure 11 : Protocole de fermentation des sucres par les bactéries lactiques.....	23
Figure 12 : Résultats de mesure du pH de différents échantillons.....	24
Figure 13 : Résultats de mesure de l'acidité Dornic des différents échantillons.....	25
Figure 14 : Résultats de mesure de taux de matière grasse de différents échantillons du l'ben.....	26
Figure 15 : Résultats de mesure de la densité de différents échantillons du l'ben.....	27
Figure16 : Résultats de dénombrement de la flore totale sur milieu PCA.....	28
Figure 17 : Résultats de dénombrement des levures et des moisissures.....	29
Figure 18 : Résultats de dénombrement des bactéries lactiques sur milieu MRS et M17.....	30
Figure 19 : Résultat de dénombrement des coliformes totaux.....	31
Figure 20 : Résultats de confirmation de présence d'E.coli	32

Figure 21 : Résultats de dénombrement des streptocoques totaux.....	33
Figure 22 :Résultats de dénombrement des staphylocoques.....	34
Figure 23 : coloration de Gram et test de coagulase pour <i>S .aureus</i>	35
Figure 24 :Aspect des bactéries lactiques sur milieu MRS et M17.....	36
Figure 25 : Croissance des bactéries lactiques sur bouillons MRS et M17.....	36
Figure 26 : Différentes formes des bactéries lactiques après coloration de Gram.....	37
Figure 27 : profil fermentaire des bactéries lactiques.....	38

Liste des abréviations

MRS: Man Rogosa Sharp

PCA: Plate Count Agar

OGA :Oxytétracycline-Glucose-Agar

BCPL :Bouillon Bromochresol Pourpre Lactose

EMB : Eosine Bleu de Méthylène

FTAM : Flore Totale Aérobie Mésophile

TSI :Three Sugar Iron

BHI :Bair Heart Infusion

GC :Giolitti Cantoni

SS : Salmonelle-Shigelle

JORA :Jornal Officiel de la République Algérienne

CSR :Clostridium Sulfito-Reducteur

S.aureus :*Staphylococcus aureus*

Lc:*Lactococcus*

St :*Streptococcus*

Ln :*Leuconostoc*

Lb :*Lactobacillus*

HC 1 : Acide Chloridrique

NaCl : Chlorure de sodium

pH : Potentiel d'Hydrogene

D° : Degré Dornic

V : volume

UFC : Unité Formant Colonie

MG : Matière Grasse

d : densité

Liste des tableaux en annexe

Annexe I :

Tableau I : Nombre des échantillons et origine du l'ben collecté.

Tableau II : Tests d'identification d'*E .coli* .

Annexe II :

Tableau I : Résultats d'analyses physico-chimiques de différentes échantillons de l'ben

Tableau II : Résultats de dénombrement des flores dans le l'ben

Tableau IV : Résultats des recherches de la flore dans les échantillons du l'ben collectés

Annexe III :

Tableau I : Tableau de référence caractéristique des genres

Lactococcus,Streptococcus,Pediococcus ,Leuconostoc et *Lactobacilus*

Tableau II : Caractéristiques physiologiques et biochimiques de quelques espèces du genre *Lactococcus* :

Tableau III : Profil fermentaire de quelques espèces de genre *Lactococcus* :

Tableau IV : Tableau de référence des principaux caractéristiques des espèces *lactococcus*. Homofermentaire mésophiles.

Tableau V : Tableau de référence des principaux caractéristiques des espèces *:pediococcus* sp homofermentaire thermophiles et mésophiles (de Roissart ,1986).

Tableau VI: Tableau de référence des principaux caractéristiques des espèces *leuconostocs* thermophiles et mésophiles .

Tableau VII : Tableau de référence des principaux caractéristiques des lactobacilles (bacille) Homofermentaires thermophiles et mésophiles.

Annexe IV :

Tableau I : Caractérisation morphologique des isolats des bactéries lactiques

Tableau II : Les cocci homofermentaires et hétérofermentaires

TableauIII : Critères d'identification des isolats du groupe lactocoques,streptocoques et pediocoque

Tableau IV : Résultats de test de croissance des lactococcus homofermentaires

Tableau V : Profil fermentaire des lactococcus homofermentaires

Tableau VI : Test de croissance des streptococcus homofermentaire thermophiles :

Tableau VII : Résultats des tests de croissance des pediococcus homofermentaires thermophiles et mésophiles

Tableau VIII : Résultats des tests de fermentation des sucres chez les pediococcus homofermentaires thermophiles et mésophiles

Tableau IX : Tests de croissance des leuconostocs hétérofermentaires thermophiles et mésophiles.

Tableau X : Résultats des tests de fermentation des sucres chez les loconostocs hétérofermentaire thermophiles et mésophiles

Tableau XI : Les principaux isolats de forme bacille et coccobacilles

Tableau XII : Résultats des tests physiologiques et biochimiques des souches de genre *Lactobacillus*(bacilles)

Tableau XIII : Résultats de production de gaz par les lactobacilles (coccobacilles)

Tableau XIV : Résultats des tests de croissances des bacilles homofermentaires thermophiles et mésophiles

Tableau XV : Résultats des tests de croissance des lactobacilles(coccobacille) homofermentaires thermophiles

Tableau XVI : Résultats de test de fermentation des sucre chez les lactobacilles(coccobacilles) homofermentaire thermophiles

Tableau XVII : Résultats des tests de croissance des lactobacilles(coccobacille)homofermentaires mésophiles

Tableau XVIII : Résultats des tests de fermentation des sucres chez les lactobacilles (coccobacille) homofermentaires mésophiles

Tableau IXX : Résultats des tests de croissances des lactobacilles (coccobacilles) hétérofermentaires thermophiles

Tableau XX : Fermentation des sucres chez les lactobacilles(coccobacilles)hétérofermentaires thermophiles :

Tableau XXI : Résultats des tests de croissances des lactobacilles (coccobacilles) hétérofermentaires mésophile

Tableau XXII : Fermentation des sucres chez les lactobacilles (coccobacilles)
hétérofermentaire mésophile

Introduction

Le lait cru fournit une matrice facilement accessible, riche en une grande variété de nutriments essentiels : des minéraux, des vitamines et des protéines. Il est par conséquent essentiel à l'ensemble des fonctions du corps (Steijns, 2008). Il représente un milieu fortement altérable par voie microbienne en raison de sa forte teneur en eau, de son pH proche de neutralité et de sa richesse en composants biodégradables (lactose, protéines et lipides). (Huyghebaert, 2006). Cette richesse permet la transformation du lait cru en divers produits laitiers fermentés.

Historiquement ces produits fermentés ont été produits pour prolonger la durée de conservation du lait (Coagan, 1996). Leur nature dépend de : type du lait cru utilisé, le prétraitement, les conditions de fermentation et le traitement ultérieur.

La fermentation lactique implique principalement des bactéries lactiques qui sont responsables, de transformation du lactose en acide lactique, elles sont également responsables en partie du goût et de la texture des produits laitiers fermentés (Johnson et Steele, 2001). Leur utilisation permet de satisfaire les besoins du point de vue sanitaires en industrie alimentaire et permet d'inhiber la prolifération des micro-organismes pathogènes, ainsi d'assurer une bonne conservation des aliments (Rosse, 2002).

De nombreuses études scientifiques montrent que les produits laitiers préparés traditionnellement à partir du lait cru ont des saveurs typiques et des qualités nutritionnelles de plus en plus recherchés par le consommateur (Chammas et al., 2006).

En effet, plusieurs pays ont exploité leurs richesses concernant les produits laitiers fermentés traditionnels, notamment le Maroc, la Tunisie, l'Égypte, la Turquie, le Sénégal... Mais en Algérie peu d'auteurs ont cherché à caractériser la flore microbienne de ces produits fermentés traditionnels tel que le djben, le raib, et le l'ben qui sont les plus populaires.

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail qui porte sur :

- Une étude de la qualité physico-chimique et microbiologique du l'ben traditionnel issu du lait cru de vache, prélevé dans différentes régions de trois wilayas en Algérie (Béjaia, Sétif et Tizi Ouzou)
- Isolement, purification et identification partielle des bactéries lactiques caractérisant les différents échantillons du l'ben traditionnel.

Synthèse bibliographique

I. Le lait :

I.1. Le lait destiné à l'alimentation humaine :

Le lait destiné à l'alimentation humaine a été défini en 1909 par le congrès international de la répression des fraudes : « Le lait est le produit intégral de la traite totale et interrompue d'une femelle laitière bien portante bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum ». (Larpen et *al.*, 1996).

I. 2. Lait cru de vache et sa composition physico- chimique :

Le lait sans indication de l'espèce animale de provenance correspond au lait de vache. C'est un liquide opaque, de couleur blanche, plus au moins jaunâtre selon la teneur de la matière grasse en bêta-carotène, sa saveur est douce, son odeur est faible. Il contient une forte proportion d'eau (environ 87%). Le reste est représenté par l'extrait sec (environ 130g par litre). (Larpen et *al.*, 1997).

Les principaux constituants physico-chimiques du lait cru de vache sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau I : principaux constituants physico-chimiques du lait cru de vache. (Dillon, 2008).

composants		Composition moyenne du lait cru de vache en g /l
Eau		900
Extrait sec		130
Matière grasse		35-40
protéines	totaux	30-35
	caséines	27-30
	albumines	3-4
Glucides (lactose)		45-50
Matière minérale		8-10

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

I.3. Caractéristiques physico-chimiques du lait cru de vache :

Les caractéristiques physico-chimiques du lait cru de vache (tableau II) varient sensiblement selon les espèces animales, et même selon les races (Rahali et Ménard, 1991). Ces caractéristiques varient également au cours de la période de lactation, de la traite ou de l'allaitement. Elles sont aussi tributaires de la nature de l'alimentation des animaux (Coulon et *al.*, 1995).

Tableau II : Caractéristiques physico-chimiques du lait cru de vache (Bourgeois et *al.*, 1990).

Caractéristiques	Valeurs
pH (à 20°C)	6,6
Densité	1,030-1,033
Température de congélation (°C)	-0,53
Acidité (°D)	16-18
Indice de réfraction (à 20°C)	1,35
Point d'ébullition (°C)	100,16

I.4. La microflore du lait :

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

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

Le lait cru peut être contaminé par différents microorganismes avant, pendant et après la traite ; ils peuvent être classés dans les flores suivantes :

I.4.1 Flore originelle (indigène) :

Lorsqu'il est prélevé dans des bonnes conditions, le lait contient essentiellement des germes saprophytes du pis et des canaux galactophores.

Tableau III : La flore indigène du lait (Lamontagne et *al.*, 2002).

Micro-organismes	Pourcentage(%)
<i>Micrococcus</i>	30-90
<i>Lactobacillus</i>	10-30
<i>Streptocoques lactiques (Streptococcus thermophilus)</i>	< 10
Gram ⁻	< 10

I.4.2.La flore de contamination :

I.4.2.1. La flore pathogène :

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

I.4.2.2. La flore psychrotrophe :

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

II. Les produits laitiers traditionnels :

L'augmentation de la production du lait durant certaines saisons, la difficulté de sa préservation sous la forme fraîche a conduit au développement des technologies de production traditionnelle (Lahsaoui, 2009). La consommation des produits laitiers est également associée à des effets bénéfiques sur la santé en plus de leurs valeurs nutritionnelles (Takahiro et *al.*, 2007).

La transformation du lait cru de vache en produits laitiers traditionnels, tels que le Raïb, L'ben et Jben est réalisée via une fermentation spontanée sans l'ajout d'une entrée sélectionnée.

Ces produits ont une grande importance culturelle médicinale, et économique (Lahsaoui, 2009). Effectivement, les produits laitiers fermentés traditionnels les plus populaires en Algérie sont : el-zebda, le raïb, le jben et le l'ben.

II.I. Le l'ben :

II.I.1. La transformation du lait en l'ben :

Le lait est abandonné à lui-même jusqu'à sa coagulation. Celle-ci se fait à température ambiante et dure 24 à 48 h suivant la saison. Le barattage qui lui succède dure 30 à 40 min. A la fin du barattage, on ajoute généralement un certain volume d'eau (environ 10 % du volume du lait), chaude ou froide, suivant la température ambiante, de façon à ramener la température de l'ensemble à un niveau convenable au rassemblement des grains de beurre ; produit de grande valeur marchande (Tantaoui-Elaraki et *al.*, 1983).

II.I.2. La qualité physico-chimique du l'ben :

La composition chimique du l'ben est variable, elle dépend des localités, des régions des fermes, de la composition chimique du lait de départ et de procédure de fabrication. (El-Baradei et *al.*, 2008).

Les valeurs moyennes des principaux constituants du l'ben sont indiquées dans le tableau IV (page 6) :

Tableau IV : Qualité physico-chimique du l'ben (Tantaoui Elaraki et *al.*, 1987). :

pH	4,2
Acidité titrable	8,2g en acide lactique
Protéines totales	25,6g/l
Lactose	26,9g/l
Matière sèche totale	89g/l

II.I.3. La qualité microbiologique du l'ben :

Les premières études sur la composition microbiologique des laits fermentés (Tableau V) datent de la fin du 19^{ème} siècle (Oberman et *al.*, 1998).

Tableau V : La microbiologie du l'ben (Tantaoui-Elarakiet El Marrakchi ,1983)

Bactéries lactiques	Streptocoques, <i>Leuconostoc</i> , Lactobacilles : flore majoritaire dans le l'ben, jouent un rôle important dans l'élaboration du l'ben (acidification, aromatisation)
Levures et moisissures	Se développent régulièrement, notamment avec l'acidification mais n'atteint jamais un nombre très élevé .Participent à la production d'aromes.
Autres microflores	Coliformes, streptocoques fécaux, la flore totale aérobie mésophile : déterminent la qualité hygiénique du produit, leur nombre est variable.

Le l'ben peut se contaminer aussi par des microorganismes pathogènes tel que *Salmonella* sp , *Staphylococcus aureus* ,*Clostridium perfringens* ,*Clostridium botulinum* , *Esherichia coli* et certaines moisissures , la source de cette contamination peut être l'animal, l'environnement ou l'homme (Vignola, 2002).

III : Les bactéries lactiques :

III.1. Définition et principaux caractères des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques sont très anciennes, elles sont apparues avant les cyanobactéries, il ya près de trois milliard d'années (Tailliez,2001). 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). Elles sont définies comme des cellules vivantes, procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes.

Tableau VI : Principaux caractères des bactéries lactiques : (Badis et *al.*, 2005).

Principaux caractères des bactéries lactiques	
Forme	Coque ou bacille
Coloration de Gram	Gram ⁺
Type respiratoire	Aéro-anaérobie facultatif
Type de fermentation	Homofermentaire ou hétérofermentaire
Spore	Asporulé
mobilité	-
catalase	-
oxydase	-
Nitrate-réductase	-
Exigences nutritionnelles	Glucide fermentescible Acide gras Acides aminés Peptides Vitamines et sels minéraux

III.2. Identification et classification des bactéries lactiques :

Schillinger et Luke en 1987 ont été les premiers qui ont proposé une clef d'identification des bactéries lactiques de la viande basée sur la comparaison des caractéristiques typiques des différentes espèces. (Ammor, 2004)

Les critères morphologiques sont considérés comme la caractéristique clé pour décrire et classer les genres des bactéries lactiques. De ce fait, elles peuvent être classées à environ vingt genres dont *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Streptococcus* représentent les principaux genres.

Des méthodes physiologiques et biochimiques sont adoptées tel que la croissance à certaines températures, à certaines concentrations de NaCl, à différents pH, la production de CO_2 en milieu glucosé, le profil de fermentation de nombreux sucres... (Vandamme et al., 1996),

Actuellement, des méthodes génotypiques sont adoptées. Ces techniques basées sur l'analyse de l'ADN permettant une meilleure différenciation des micro-organismes à différents niveaux allant du genre jusqu'à la souche en fonction des méthodes utilisées (Gevers, 2002). Le séquençage direct du gène d'ARNr, 16s est l'une des méthodes les plus puissantes pour l'identification en une seule étape d'une souche inconnue. (Ammor, 2005).

III.3. Intérêt des bactéries lactiques :

III.3.1. La fermentation lactique :

Les bactéries lactiques sont parmi les plus importants groupes de micro-organismes utilisés dans les fermentations alimentaires. (Hikmate et al., 2012). Elles participent à la fabrication de produits laitiers fermentés. Les bactéries lactiques homofermentaires composent majoritairement les ferments utilisés pour transformer le lactose en acide lactique. Elles sont également responsables, en partie, du goût et de la texture des produits laitiers fermentés (Johnson et Steele, 2001).

III.3.2. La production de composés antagonistes :

Les bactéries lactiques ont la propriété de produire des composants antagonistes tels que des acides organiques (acide lactique et acide acétique), qui font baisser le pH dans le milieu, des bactériocines qui renforcent la conservation (Bekhouché et Boulahrouf, 2005), la synthèse du peroxyde d'hydrogène qui peut s'accumuler et être inhibiteur de différents micro-

organismes par l'oxydation des lipides membranaires et la destruction des protéines cellulaires (Zalam et *al.*, 2005).

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

III .3.3. Propriétés probiotiques :

De nos jours, les bactéries lactiques sont, de plus en plus, recherchées pour des qualités thérapeutiques dans des préparations appelées probiotiques (Patrignani et *al.*, 2006)

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

Les bénéfices potentiels des probiotiques vont de la Suppression de l'activité de certains pathogènes, de l'amélioration de l'utilisation du lactose (De Vrese et *al.*, 2001), de la réduction du cholestérol sanguin et du niveau de substances carcinogènes, de l'inactivation de composés toxiques (Bottazzi, 1994). Les probiotiques participent à l'activation de l'immunité et à la réduction d'allergies chez les sujets à risque (Heyman et *al.*, 2006).

Matériel et méthodes

I. Lieu et durée du travail :

L'étude réalisée a porté sur le l'ben traditionnel produit dans trois wilaya en Algérie : Béjaia, Sétif et Tizi Ouzou. (Tableau I, annexe I). Elle a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie (Bloc 09) de l'université A. Mira de Béjaia sous la direction et l'orientation du D^r Faradji durant une période de trois mois, allant de 22 Février 2015 jusqu'au 21 mai 2015.

Les analyses physico-chimiques ont été réalisées au niveau du laboratoire de contrôle de qualité et de conformité **SNC PREVOLAB**, situé à El-Kseur (Béjaia).

L'étude réalisée est scindée en deux grandes parties :

- Etude de la qualité physico-chimique et microbiologique du l'ben collecté des différentes régions des wilayas de Béjaia, Sétif et Tizi Ouzou.
- Isolement, purification et identification partielle de la flore lactique caractérisant les échantillons du l'ben analysés.

II. Etude de la qualité physico-chimique et microbiologique du l'ben :

II.1 Echantillonnage :

L'étude a porté sur quatorze échantillons du l'ben traditionnel dont onze collectés de différentes régions de la wilaya de Béjaia :(Tizi, Fénaia, Oued Ghir, Bolimat, Amizour, Adekar, Tichy ,Kendira, PK7(entrée de Tichy),Toudja et Timezrit) ,deux échantillons sont collectés de la wilaya de Sétif(Tizi N'bechar et Ras-Elma) et un échantillon collecté de la wilaya de Tizi Ouzou (Bouzgan). Environ 300 ml du l'ben sont transférés dans des flacons stériles, étiquetés puis transportés à température ambiante au laboratoire, dans une durée qui ne dépasse pas six heures .

II.2 Etude de la qualité physico-chimique :

Afin d'évaluer la qualité physico-chimique des échantillons du l'ben collectés, quatre paramètres physicochimiques ont été étudiés :

II.2.1. Mesure du pH :

La mesure de la valeur du pH est réalisée à l'aide d'un pH-mètre (HANNA pH 211) bien étalonné au préalable (Figure 01).



Figure 01 : pH-mètre HANNA pH 211

II.2.2. Mesure de l'acidité Dornic :

10 ml du l'ben additionné de deux à trois gouttes de phénolphtaleine (BIOCHEM CHIMOPHARMA) à 1% est titré avec du NaOH (BIOCHEM :31945200) (1/9N) à l'aide d'une burette de 50 ml, sous agitation jusqu'au virage de la couleur vers un rose maintenu au moins cinq secondes (Figure 02).

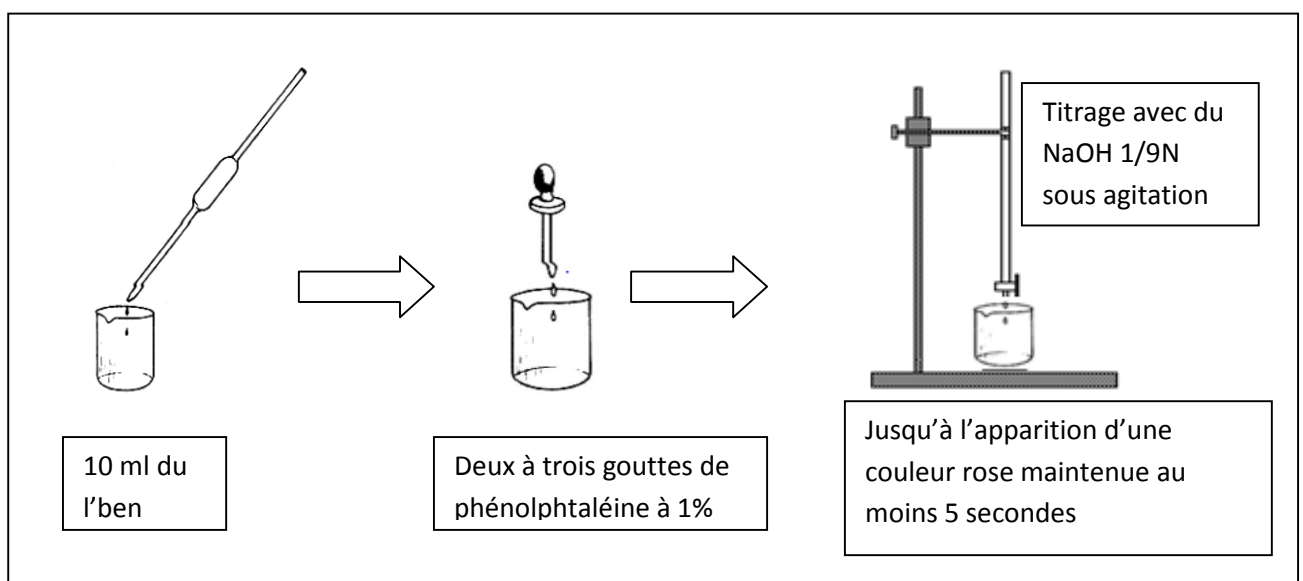


Figure 02 : Mesure de l'acidité Dornic

Le résultat est exprimé selon la formule suivante :

$$\text{Acidité en } ^\circ\text{D} = V \times 10$$

V : volume de NaOH nécessaire pour le titrage.

1[°]D=0,1g d'acide lactique par un litre.

II.2.3.Mesure de taux de la matière grasse (MG) :

Le taux de la matière grasse est déterminé par la méthode de Gerber appelée aussi la méthode acide-butyrométrique, on introduisant dans l'appareil de Gerber (figure 03) 10 ml d'acide sulfurique à une concentration de 95% , 11 ml du l'ben et 1ml d'alcool iso- amylique. Le mélange subit une centrifugation à 1200/min tours par 5 minutes à l'aide d'une centrifugeuse **FUNKE-Gerber** (figure 04).

Le résultat est exprimé en g/l en appliquant la formule suivante :

$$\text{MG (g/l)} = (B - A) \times 100$$

B : La lecture faite à l'extrémité supérieure de la MG

A : La lecture faite à l'extrémité inférieure de la MG



Figure 03 : Appareil de Gerber



Figure 04 :Centrifugeuse FUNKE-Gerber

II.2.4.Mesure de la densité :

La densité (d) du l'ben est déterminée selon la formule suivante :

$$d = \frac{M_{Vx}}{M_{Ve}}$$

M_{VX} : La masse volumique du l'ben

M_{Ve} : La masse volumique de l'eau

$M_{Ve} = 0,998 \text{ Kg / l}$

Sachant que :

$$M_{VX} = \frac{m_X}{V_X}$$

m_X : La masse du l'ben

V_X : Le volume du l'ben

II.3. Etude de la qualité microbiologique :

II.3.1 .Préparation des dilutions décimales :

Une série de dilutions décimales est réalisée, après homogénéisation de l'échantillon, 1ml de ce dernier est prélevé stérilement à l'aide d'une micropipette , puis introduit dans un tube contenant 9 ml d'eau physiologique (dilution 10^{-1}). A nouveau, 1ml de cette dernière est introduit dans un deuxième tube contenu 9 ml d'eau physiologique (10^{-2}).Le procédé est répété jusqu'à l'obtention de la dilution 10^{-9} (figure 05).

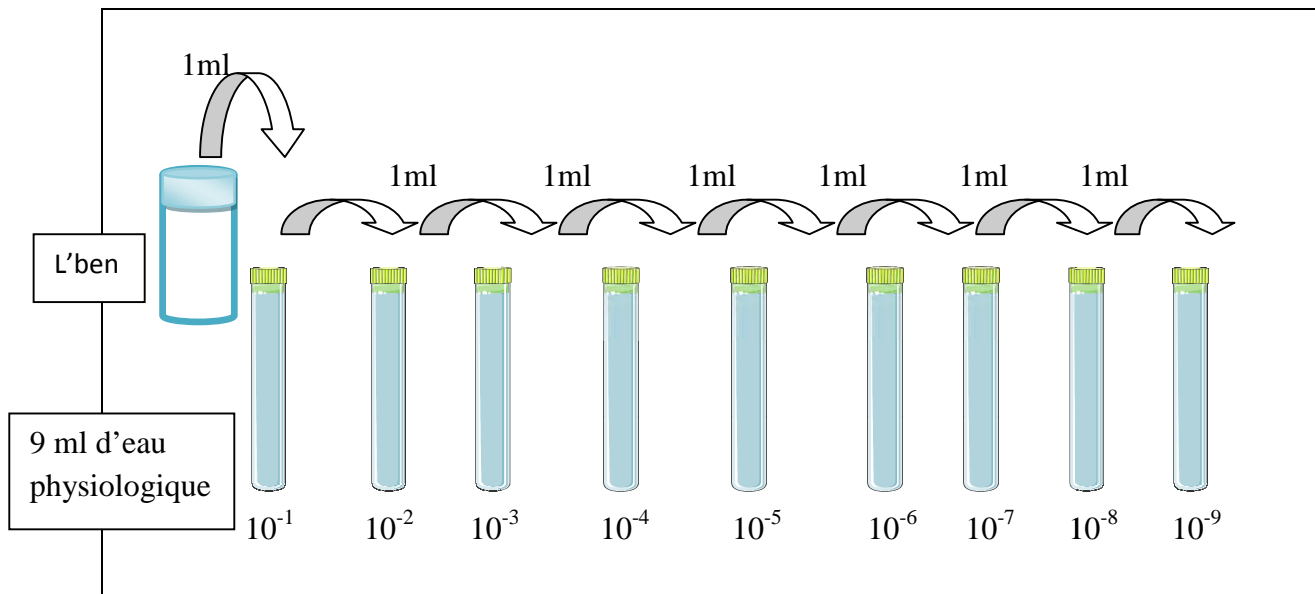


Figure 05 : Préparation des dilutions décimales.

II.3.2. Analyses microbiologiques des échantillons :

Les analyses microbiologiques ont pour but d'évaluer la qualité microbiologique des différents échantillons collectés. Ces analyses consistent à un dénombrement et / ou une recherche sur des milieux de cultures en respectant les conditions d'ensemencement, la température et la durée d'incubation de chaque flore, selon le tableau suivant :

Tableau VII : Dénombrement et/ou recherche des flores dans le l'ben :

Flore	Milieux de cultures	Dilutions	Type d'ensemencement	Température et temps d'incubation	Référence
Flore totale aérobie mésophile	PCA (LIOFILCHEM Ref : 610040)	10^{-7} à 10^{-9}	En masse	30°C/72h	JORA (2004)
Levures et moisissures	OGA	10^{-3} à 10^{-5}	En masse	30°C/72h-5 jours	JORA (2004)
Bactéries lactiques	MRS /M17 (CONDA.Cat :1318.00)	10^{-7} à 10^{-9}	En masse	37°C/24h- 72h	JORA (2004)
Coliformes totaux	BCPL (CONDA.Cat :127200)	10^{-2} à 10^{-6}	Deux tubes (9ml pour chaque dilution)+ cloche de Durham	37°C/24h- 48h	JORA (2004)
Staphylocoques	Chapman	10^{-2} à 10^{-6}	En masse	37°C/24h- 48h	JORA (2004)
Streptocoques totaux	Roth	10^{-5} à 10^{-7}	Deux tubes par dilution	37°C/24h- 48h	JORA (2004)

<p>Clostridium sulfito-réducteur (CSR)</p>	<p>Viande-foie + Alun de fer et sulfite de sodium</p>	<p>Solution mère</p>	<p>Chauffage au bain marie à 80°C/10min, suivie d'un choc thermique, verser de la gélose VF, puis recouvrir avec une couche fine d'huile de vaseline</p>	<p>37°C/24h-48h</p>	<p>Afnor. (2001)</p>
<p><i>Staphylococcus aureus</i> (<i>S.aureus</i>)</p>	<p>Enrichissement de 1ml de la dilution 10⁻¹ dans 9ml de Giolitti Cantoni additionné d'un additif (HIMEDIA.Ref :M5846-500G) pendant 24h, puis ensemencement en masse sur milieu Chapman et incubation pendant 24h-48h.</p>				<p>Afnor. (2001)</p>
<p><i>Salmonella</i></p>	<p>Enrichissement de 1ml de la dilution 10⁻¹ dans 9ml de BHI pendant 24h, puis ensemencement en masse sur milieu SS additionné d'un aditif et incubation pendant 24h-48h.</p>				<p>Afnor. (2001)</p>

Remarque : Touts les milieux utilisés dans cette partie sont représentés dans l'annexe II.

II .3.3. Tests confirmatifs des tests présomptifs :

II.3.3.1 Confirmation de présence des coliformes fécaux (*Escherichia coli*) :

1ml d'un tube BCPL positif issu du dénombrement des coliformes totaux (virage de couleur vers le jaune et présence du gaz au moins à 1/10 de la cloche de Durham) est ensemencé simultanément sur :

- Un tube neuf de BCBL avec une cloche de Durham.
- Un tube d'eau peptonée exempte d'indole.
- Milieu EMB (CONDA. Cat.1230.00) en masse.

Après incubation à 44°C/24h, la présence d'*Escherichia coli* est confirmée par :

- Le virage du milieu BCPL vers le jaune et présence du gaz à 1/10 du la cloche de Durham.
- Formation d'un anneau rouge après l'ajout du réactif de Kovacs pour le tube d'eau peptonée exempte d'indole.
- Formation de colonies violettes à éclat métallique verdâtre sur milieu EMB.

Ces tests sont complétés par une mini-galerie biochimique qui consiste à un ensemencement sur les milieux suivants : Mannitol-mobilité, TSI et citrate de Semence. (Annexe II, tableau)

II .3.3.2. Confirmation de présence des streptocoques fécaux :

1 ml d'un tube Roth positif (trouble du milieu) issu de dénombrement des streptocoques totaux est ensemencé sur un tube de 9 ml d'Eva Litsky (CONDA. Cat.1230.00), puis incubé à 37°C/24h.

La présence des streptocoques fécaux est confirmée par la formation d'une pastille violette au fond du tube.

II.3.3.3 Confirmation de présence du *Staphylococcus aureus* :

Après enrichissement sur milieu Giolitti Cantoni additionné d'un additif (tellurite de potassium), et isolement sur milieu Chapman, une colonie jaune bien distincte est repiquée dans un tube de bouillon nutritif, incubé à 37°C pendant 24h, puis conservé à 4°C. Après revivification 1ml de la culture fraîche est repiquée sur milieu Chapman et incubée à 37°C/48h.

Au terme de l'incubation à 37°C pendant 24h, un test de coloration de Gram, un test de catalase et un test de coagulase ont été réalisés (Tableau VIII) :

Tableau VIII : Tests confirmatifs de *S.aureus* :

Test	Résultat de confirmation
Coloration de Gram	Cocci, Gram ⁺ , grappe de raisin
Catalase	effervescence après l'ajout d'eau oxygéné(THERALAB) sur une colonie
Coagulase	500µl d'une culture jeune sur BHI de <i>S.aureus</i> présumé est introduite dans un tube à hémolyse avec 500µl du sérum de sang humain. Le tube est incubé à 37°C/24h. La coagulation de l'ensemble indique un test de coagulase positif.

III. Identification des bactéries lactiques :

III. 1. Isolement et purification des bactéries lactiques :

1 ml de la dilution 10^{-1} (figure 05, page 14) est ensemencé en surface sur milieux MRS et M17 sur des boîtes de Pétri par la méthode des stries à l'aide d'une anse de Platine, suivi d'incubation à 30°C et à 37°C pendant 48h à 72h pour les deux milieux (MRS et M17).

Des colonies de différentes couleurs et aspect issues de différentes boîtes incubées respectivement à 30°C et à 37°C sont repiquées séparément sur bouillons MRS et M17 (FLUNA ANALYTICAL : 101093918.ref :56156), puis incubé à leur températures d'isolement respectives 30°C et 37°C pendant 24h. Le procédé est répété jusqu'à l'obtention de colonies pures (homogènes).

III.2.2 Tests sélectifs des isolats des bactéries lactiques :

Afin de sélectionner des isolats qui appartiennent probablement aux bactéries lactiques et on se basant sur le fait que les bactéries lactiques sont des Gram positif et catalase négatif, le dernier repiquage sur milieu MRS ou M17 agar a servi pour les tests suivants :

III.2.2.1. Coloration de Gram :

Sert à déterminer les genres des bactéries lactiques qui sont de Gram positif et déterminer leur morphologie et leur mode d'association.

III.2.2. Test de catalase :

Ce test a pour but de différencier les bactéries lactiques (catalase -) de la majorité des staphylocoques (catalase +). Une colonie est mise sur une lame en suspension avec une ou deux gouttes de solution de peroxyde d'hydrogène (SIGMA ALDRICH : 18312-11).

La réaction positive se traduit par un dégagement immédiat des bulles du gaz (effervescence) (Marchal et *al.*, 1991).

III.2.3. Conservation des isolats des bactéries lactiques :

Pour une utilisation ultérieure (suite d'identification), les souches présentant une coloration de Gram positive et un test de catalase négatif, présumées comme étant des bactéries lactiques sont alors conservées par deux méthodes :

III.2.3.1. La conservation à courte durée :

Les souches sont conservées sur bouillons MRS ou M17 selon l'origine de leurs isolement dans des tubes falquons à une température de 4°C.

III .2.3.2. La conservation à longue durée :

Les isolats des bactéries lactiques sont conservés de la même manière à -20°C, dans du lait et dans le bouillon MRS ou M17 selon toujours leur origines d'isolement après l'ajout du Glycérol (BIOCHEMCHIMOPHARMA : 201191000) à 20%. (Figure 06)



Figure 06 : Conservation des bactéries lactiques à longue et à courte durée dans des tubes falquons.

III.2.4. Revivification des isolats de bactéries lactiques :

Les souches conservées à 4°C sont repiquées dans des tubes de 9 ml de bouillons MRS ou M17, puis incubées à 30°C ou à 37°C pendant 24h, selon l'origine et la température de leurs isolements, dans le but d'avoir une culture jeune qui va servir à la suite de l'identification.

III.2.5. Tests d'identification biochimiques des isolats des bactéries lactiques :

III.2.5.1. Test de production du gaz (CO₂) :

Ce test permet de déterminer, le type de métabolisme par lequel le glucose est transformé ; il consiste à mettre en évidence la formation du CO₂ qui est piégé dans une cloche de Durham sur bouillon MRS ou M17 selon l'origine de l'isolat. Ce test permet de différencier les isolats homolactiques des hétérolactiques après incubation à 30°C ou à 37°C pendant 24h à 48h (figure 07).

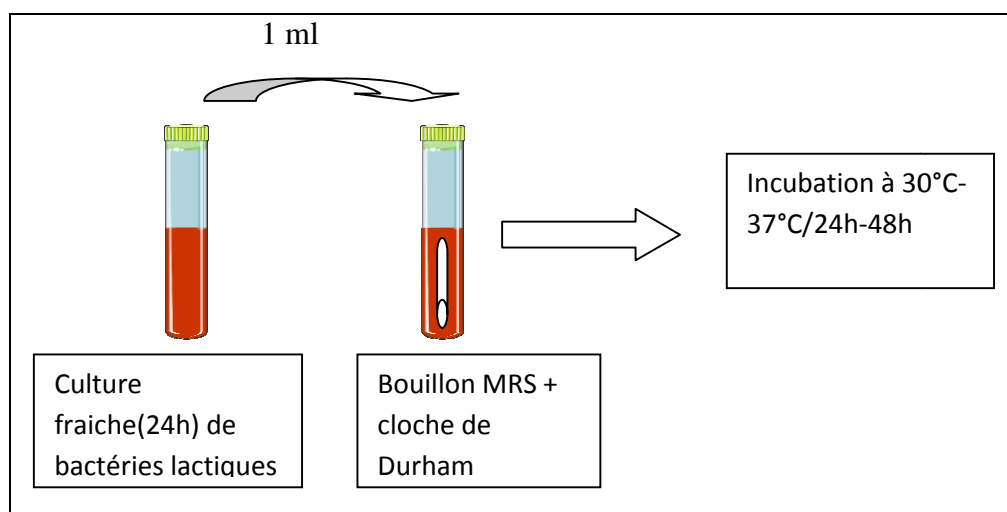


Figure 07 : Test de production de CO₂

III.2.5.2. Test de croissance à différentes températures :

Ce test permet de différencier les isolats thermophiles des isolats mésophiles : 1ml de la culture des bactéries lactiques revifiées selon la méthode décrite précédemment (page 19) est ensemencé dans trois tubes du bouillon MRS ou M17 selon l'origine d'isolement de la souche.

Le premier tube est incubé à 30°C, le deuxième tube est incubé à 37°C et le troisième à 45°C (Figure 08).

La croissance à différentes températures testées est appréciée par un trouble du milieu après 24h-48h d'incubation.

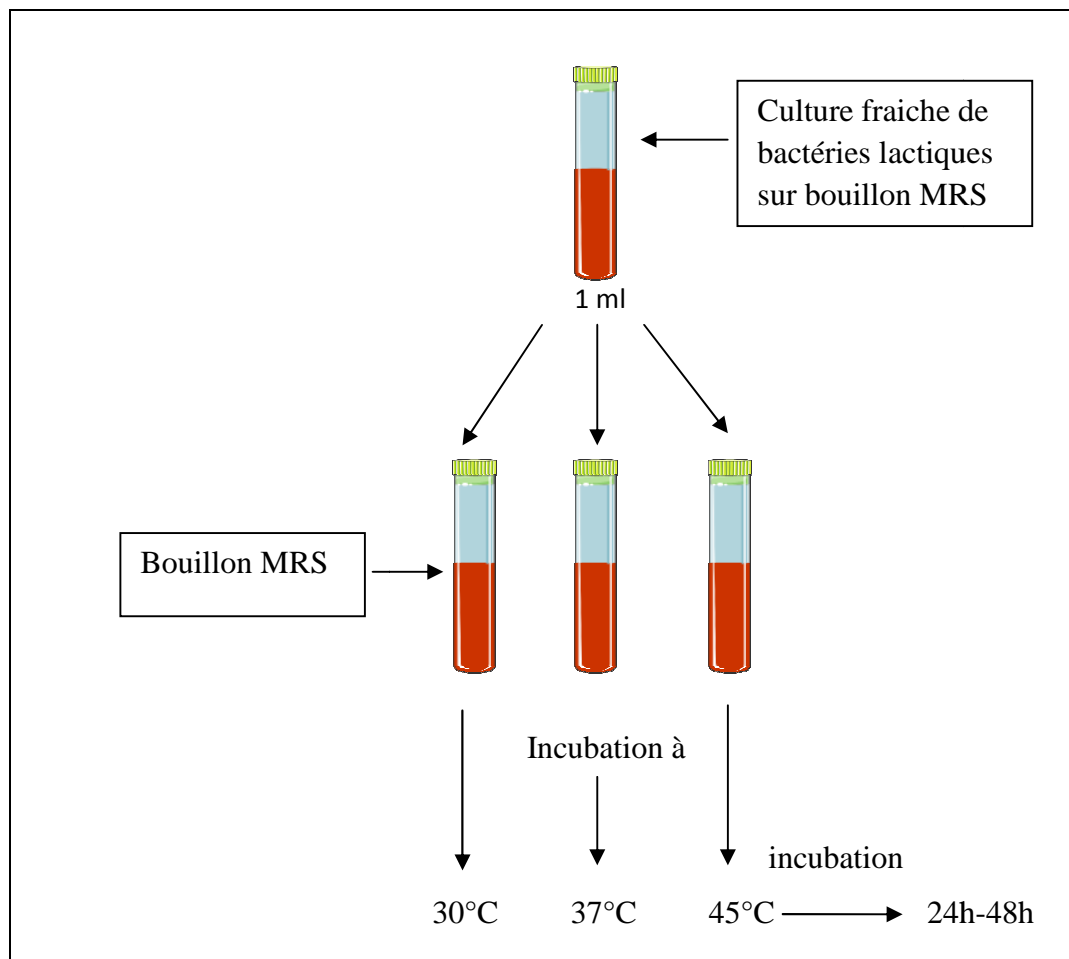


Figure 08 : Test de croissance à différentes températures.

III.2.5.3. Test de la thermorésistante :

1ml de chaque isolat revifié selon la méthode décrite précédemment (page 19) est inoculé dans des tubes contenant 9 ml de MRS ou M17 neuf, ensuite les tubes sont déposés dans un bain marie à 63,5°C pendant 30 minutes, après refroidissement brusque, ils sont incubés à 30°C ou à 37°C selon la température de leur isolement pendant 48 à 72h. Un résultat positif se traduit par un trouble du milieu (croissance) (Badis *et al.*, 2005).

III.2.5.3. Test de croissance à différentes valeurs de pH :

1ml d'une culture fraîche de 24h de chaque isolat est ensemencer selon l'origine de l'isolement dans des tubes MRS ou M17 à différentes valeurs de pH : 4, 4,5, 5,4, 6,5 et à 8,7.

Les tubes sont incubés à 30°C ou à 37°C pendant 24h à 48h selon la température d'isolement (Figure 09).

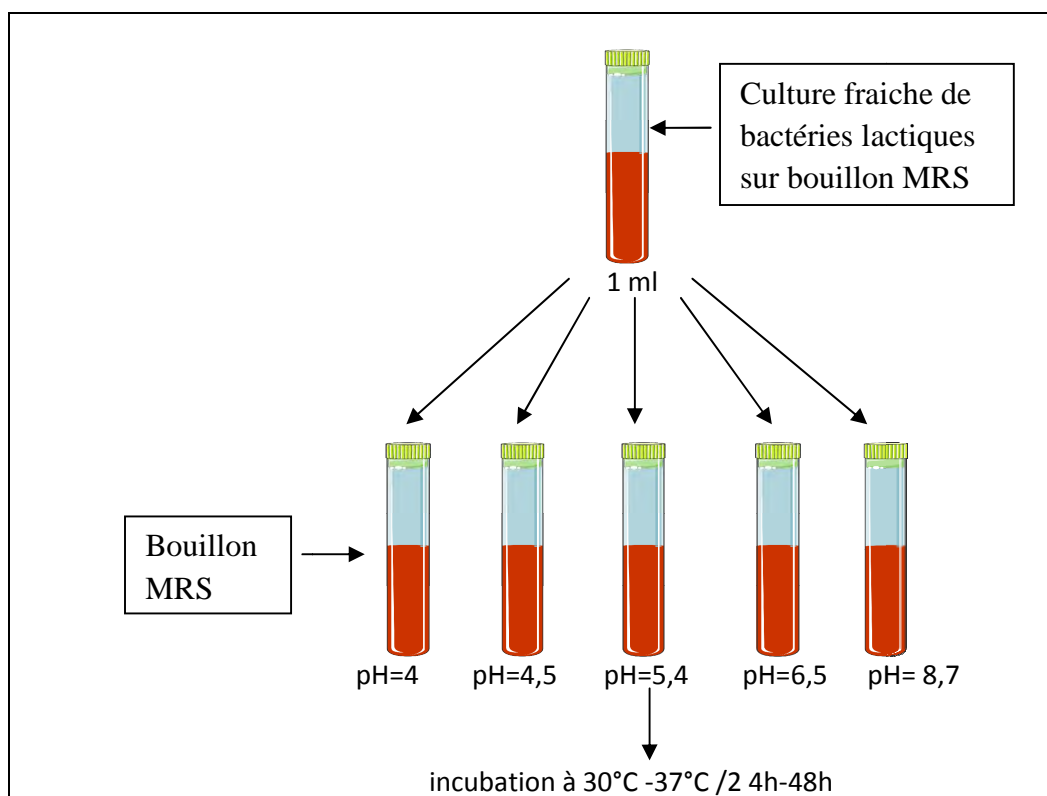


Figure 09 : Test de croissance à différentes valeur du pH.

III.2.5.4. Test de croissance à différentes concentration de NaCl :

1ml d'une culture fraîche de 24h de chaque isolat est ensemencé selon l'origine de l'isolement dans des tubes MRS ou M17 à différentes concentrations de NaCl :2%,4% et 6,5% puis incubée à leur température respective de croissance 30°C et 37°C (Figure 10)

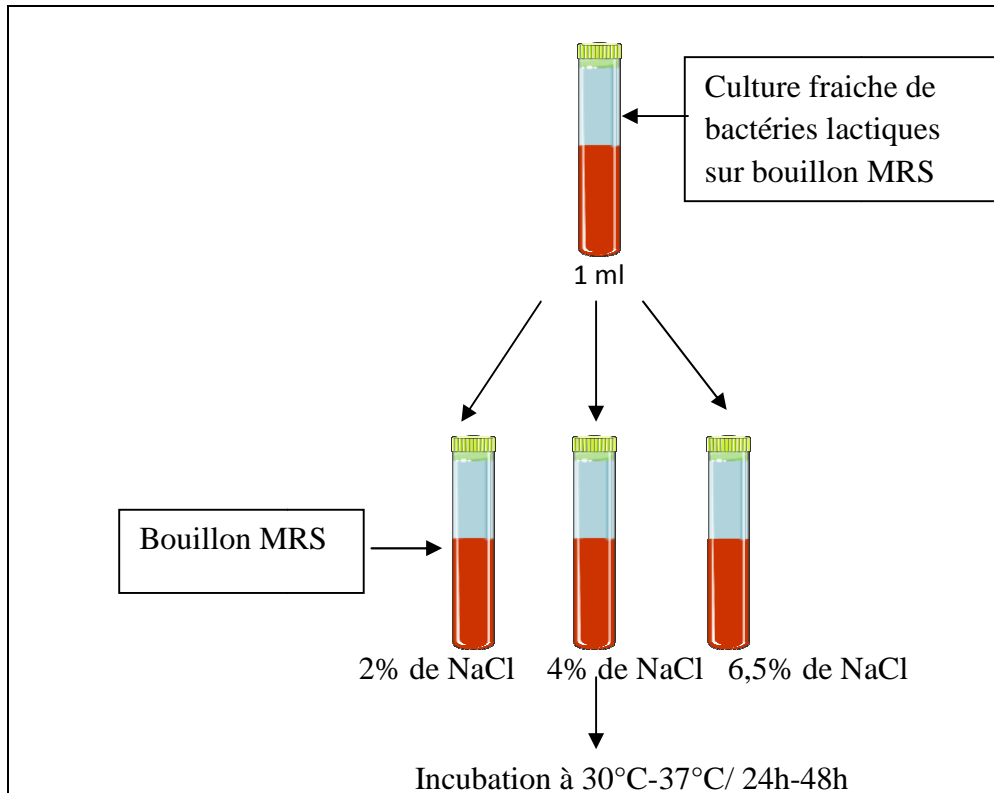


Figure 10 : Test de croissance dans différentes concentration de NaCl

Remarque : Chaque test réalisé est accompagné d'un témoin négatif et un autre positif, ces derniers consistent à un tube de bouillon MRS ou M17 non ensemencé (témoin-) et d'autres ensemencés (témoin +).

III.2.5.5. Tests de fermentation des sucres :

Après avoir déterminé le genre des différents isolats de bactéries lactiques, un test de fermentation des sucres est réalisé afin de déterminer leurs espèces.

À partir d'une culture fraîche de 24h (préparée selon la méthode décrite à la page 19) sur milieu MRS ou M17, un ensemencement en surface sur MRS ou M17 agar est réalisé (toujours selon l'origine des isolats).

Après incubation à 48h, une colonie bien distinguée est ensemencée dans un tube de bouillon MRS ou M17, dépourvu de sucre et d'extrait de viande et additionné de 0,04g/l de rouge de phénol. Chaque sucre testé est rajouté séparément dans un tube de bouillon MRS ou M17 à une concentration de 2% (Tourneur, 1972).

Les sucres testés sont : le glucose, lactose, arabinose, maltose, xylose, mannitol, lévulose, glycérine, cellobiose et le saccharose.

Au terme de l'ensemencement, les cultures sont recouvertes par quelques gouttes d'huile de vaseline stérile afin d'assurer les conditions d'anaérobiose (Samelis et *al.*, 1994).

Un témoin négatif est réalisé, ce dernier consiste à un tube de MRS ou M17 sans sucre, ensemencé par la souche testée.

Après incubation à 30°C ou à 37°C selon l'origine des isolats, un virage de la couleur au jaune est synonyme de croissance et fermentation de sucre (Figure 11).

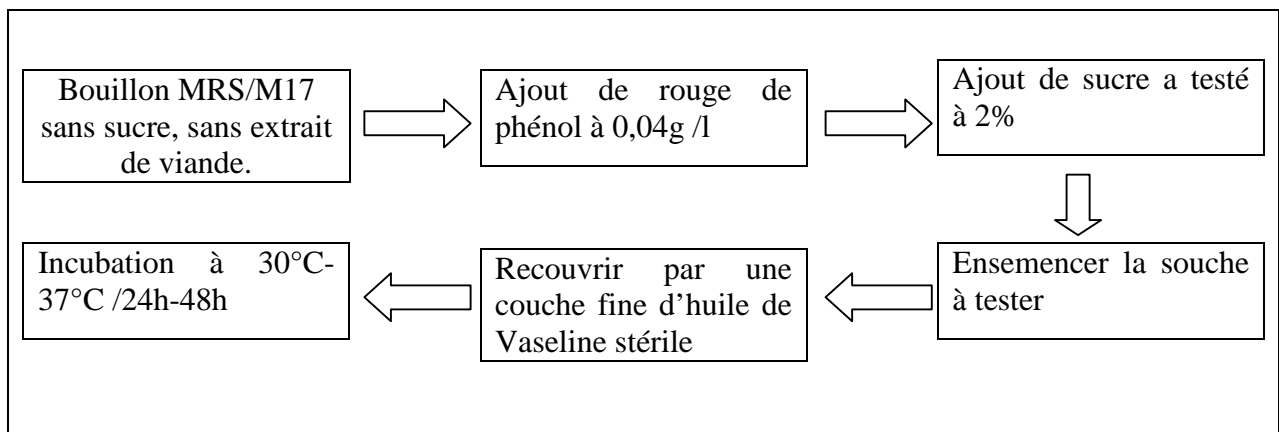


Figure 11 : Protocole du test de la fermentation des sucres

Résultats et discussion

I. Analyses physico-chimiques :

14 échantillons de l'ben prélevés de différentes régions des trois wilayas (Béjaia, Sétif et Tizi Ouzou) ont subi une analyse physico-chimique .Cette dernière consiste à une mesure du pH, de l'acidité Dornic, taux de matière grasse, et de la densité.

I.1. Mesure du pH :

Les résultats de la mesure du pH des 14 échantillons du l'ben sont illustrés dans la figure 12 (tableau I, annexe II).

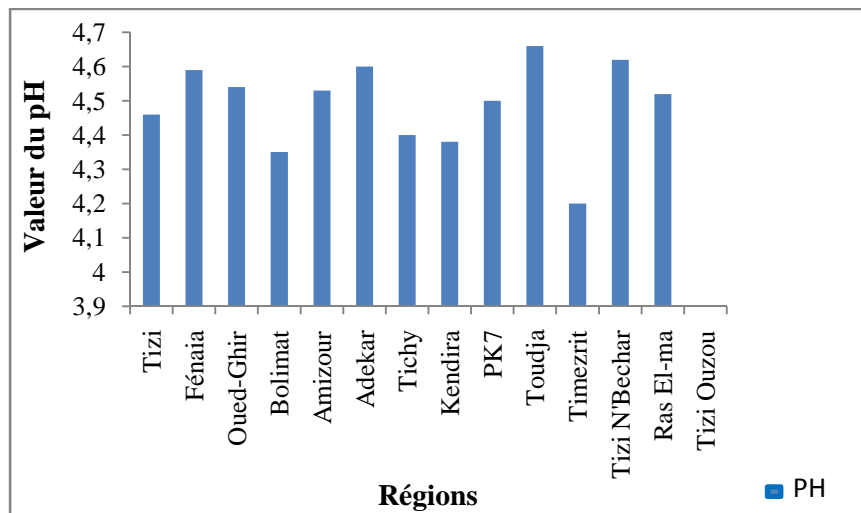


Figure 12 : Résultats de mesure du pH de différents échantillons.

Les valeurs obtenues du pH se situent entre 4,2 et 4,66 avec une moyenne de 4,41 pour l'ensemble des échantillons. Quatre échantillons (Bolimat, Kendira, Timzrit, Tizi Ouzou) ne répondent pas aux normes de J.O.R.A (1993) qui tolère des valeurs de pH entre 4,40 et 4,60.

Selon Alias(1984), le pH n'est pas une valeur constante. Il peut varier selon le type du lait cru utilisé, la méthode de préparation et l'âge de l'échantillon du l'ben. (Ouadghiri, 2009).

Nos résultats se rapprochent de ceux enregistrés au Maroc par Tantaoui-Elaraki(1984) avec des valeurs de pH entre 4,3 et 4,4.

I.II. Mesure de l'acidité Dornic :

Les résultats de la mesure de l'acidité Dornic des différents échantillons du l'ben sont illustrés dans la figure 13 (tableau I, annexe II) et dans la figure 13.

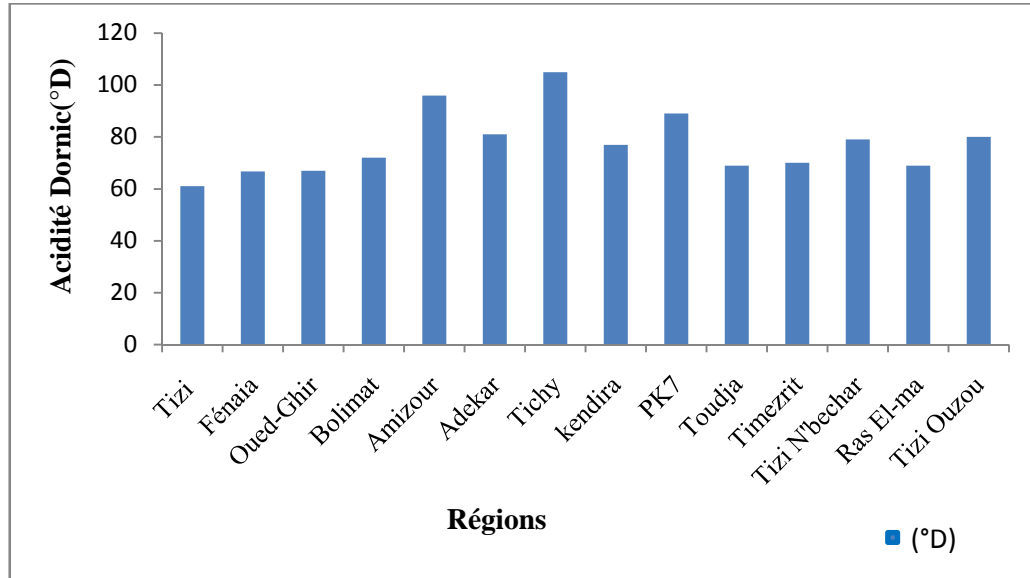


Figure 13 : Résultats de la mesure de l'acidité Dornic des différents échantillons.

Nous avons enregistré des valeurs d'acidité Dornic entre 61,11°D et 105°D avec une moyenne de 77,26°D pour l'ensemble des échantillons. On note une activité lactique importante dans le l'ben par rapport au lait cru (18°D).

Les valeurs de l'acidité Dornic de neuf échantillons (Tizi, Fénaia, Oued-Ghir, Bolimat, Tichy, Toudja, Timezrit, Amizour, Ras-El-ma) sont loin de l'intervalle fixé par le J .O.R.A (1993) qui tolère des valeurs d'acidité Dornic entre 75°D et 85°D. Cette différence de variation peut être s'expliquer par la différence d'âge des échantillons : plus un échantillon est âgé, plus il sera acide (Boubekri et *al.*, 1984).

Nos résultats se rapprochent de ceux rapportés par Bellancille (2011) au Sénégal avec des valeurs d'acidité qui se situent entre 67°D et 108°D. Cependant, le l'ben marocain selon les études de Tantaoui Elaraki (1984) est caractérisé par une acidité titrable entre 71°D et 78°D.

I.3 : Mesure des taux de matière grasse :

Les résultats de la mesure des taux de la matière grasse (MG) pour les différents échantillons du l'ben sont représentés dans la figure 14 (Tableau I, annexe II) .

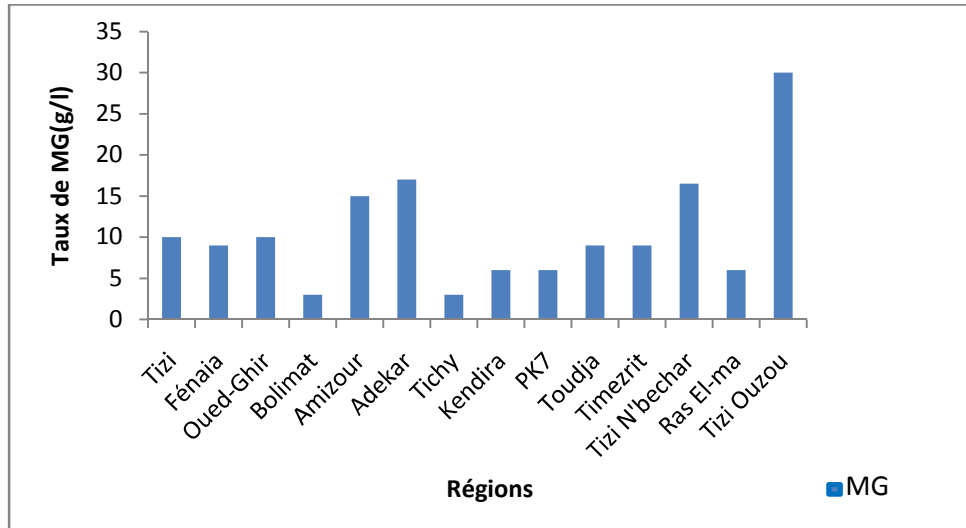


Figure 14 : Résultats de la mesure des taux de matière grasse de différents échantillons de l'ben.

Les 14 échantillons étudiés sont caractérisés par un taux de MG qui se situe entre 03g/et 30g/l. Cette différence de variation peut être due à la nature et l'efficacité ou non du barattage manuel suivi dans les différentes fermes.

En effet, par comparaison aux valeurs des taux de matière grasse du lait cru rapportées par Dillon(2008) et qui varient entre 35g/l et 40g/l, les valeurs des taux de MG des échantillons du l'ben étudiées représentent la moitié de ce dernier (Amizour :15g/l, Tizi N'bechar :16,5g/l, Adekar :17g/l) et presque la totalité pour l'échantillon collecté de Tizi Ouzou (30g/l). On constate que nos échantillons du l'ben malgré le barattage et l'écémage partielle ils restent riches en matière grasse. Selon Tantaoui Elaraki(1984), certain producteurs se servent de leurs mains ou d'une louche pour récupérer les grains de beure à la surface du l'ben à la fin de barattage, d'autres plus soucieux de récupérer le maximum de beurre traditionnel utilisant la filtration sur une toile.

I.4.Mesure de la densité :

Les résultats de la mesure de la densité des différents échantillons collectés sont représentés sur la figure 15 (Tableau I ,annexe II) .

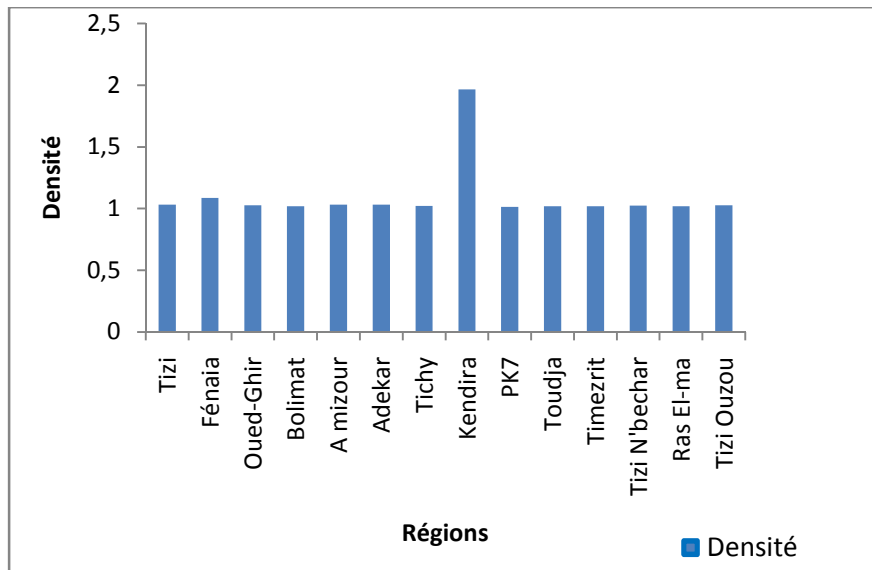


Figure 15 : Résultats de la mesure de la densité des différents échantillons du l’ben.

On a enregistré pour 12 échantillons du l’ben une densité qui varie entre 1,014 et 1,033. Ces valeurs se rapproches des valeurs de densité du lait cru de vache (1,03 -1,033) rapporté par (Bourgeois et *al.*, 1990) ,cela peut être lié à une forte adjonction d’eau par les producteurs. Cependant, l’échantillon collecté de Kendira et de Fénaïa présente une densité plus élevée (1,965 et 1,087). La valeur élevée peut être du au faible volume d’eau ajouté pour récupérer les grains de beurre à la fin du barattage. En effet, pour ces deux échantillons, un faible volume d’eau est ajouté.

II. Analyses microbiologiques :

L’analyse microbiologique des différents échantillons de l’ben consiste à un dénombrement de la FTAM, des levures et des moisissures, des bactéries lactiques, des coliformes totaux, des streptocoques totaux, des staphylocoques et une recherche des germes pathogènes :*Escherichia coli* ,*S.aureus* ,streptocoques fécaux et *salmonella*.

II.I. Dénombrement de la FTAM :

Les résultat de dénombrement de la FTAM de tous les échantillons du l’ben étudiés sont représentés dans la figure16 (Tableau II, annexe II).

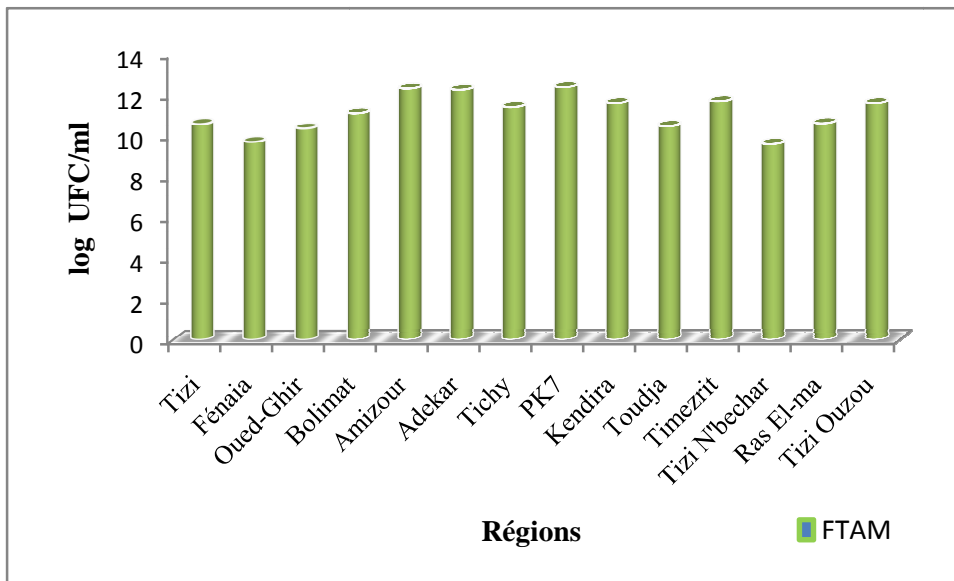


Figure16 : Résultats de dénombrement de la flore totale sur milieu PCA.

Nous avons enregistré des valeurs situées entre $18,5 \times 10^7$ et 25×10^{10} UFC/ml. Bien que le J.O.R.A ne présente pas des normes pour cette flore, on essaye de comparer nos résultats aux études similaires.

Les résultats enregistrés sont semblables à ceux retrouvés par Tantaoui Elaraki (1983) au Maroc avec des valeurs entre $4,1 \times 10^7$ UFC/ml et 38×10^{10} UFC/ml. Cependant, elles sont supérieures à celles rapportées par Marnissi et *al.* (2013) au Maroc avec une moyenne de $7,8 \times 10^7$ UFC/ml.

La teneur élevée en FTAM peut s'expliquer par le fait que ce produit laitier n'est pas pasteurisé. Cette charge peut être liée à la qualité hygiénique et aux conditions de collecte et de conservation du lait cru de départ ou à l'état de propreté des surfaces, du matériel et du personnels durant le processus de fabrication du l'ben.

II .2.Dénombrement des levures et des moisissures :

Les résultats de dénombrement des levures et des moisissures pour tous les échantillons du l'ben étudiés sont représentés dans la figure 17 (Tableau II , annexe II) .

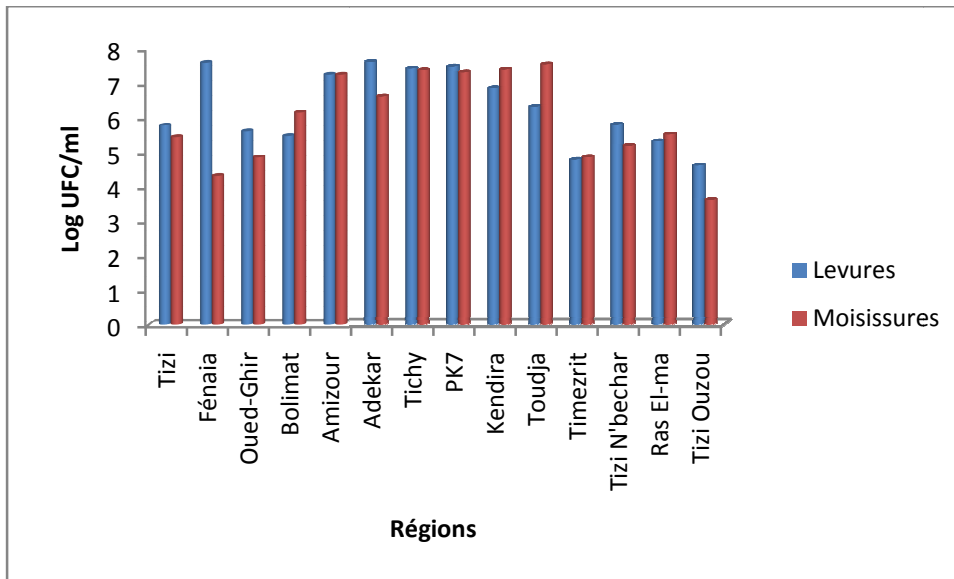


Figure 17 : Résultats du dénombrement des levures et des moisissures.

Les valeurs obtenues se situent entre 4×10^3 UFC/ml et $2,6 \times 10^6$ UFC/ml pour les levures et entre 40×10^2 UFC/ml et 34×10^5 UFC/ml pour les moisissures.

Ces résultats sont supérieurs à ceux enregistrés par Tantaoui Elaraki (1983) au Maroc avec des valeurs qui se situent entre $3,5 \times 10^2$ UFC/ml et $10,8 \times 10^2$ UFC/ml. Selon le même auteur les levures et les moisissures non déterminé dans le lait cru, se développe régulièrement dans le l'ben, mais n'atteint jamais un nombre très élevé et elles participent à la production d'aromes. Les levures et les moisissures ont un pH optimal de croissance entre 4,5 et 6,5 n'étant pas gêné par l'acidité du l'ben. (Marnissi et *al.*, 2013).

II.3 .Dénombrement des bactéries lactiques :

Les résultats du dénombrement des bactéries lactiques sur milieu MRS et M17 sont représentés sur la figure 18 (l'annexe II, tableau II) .

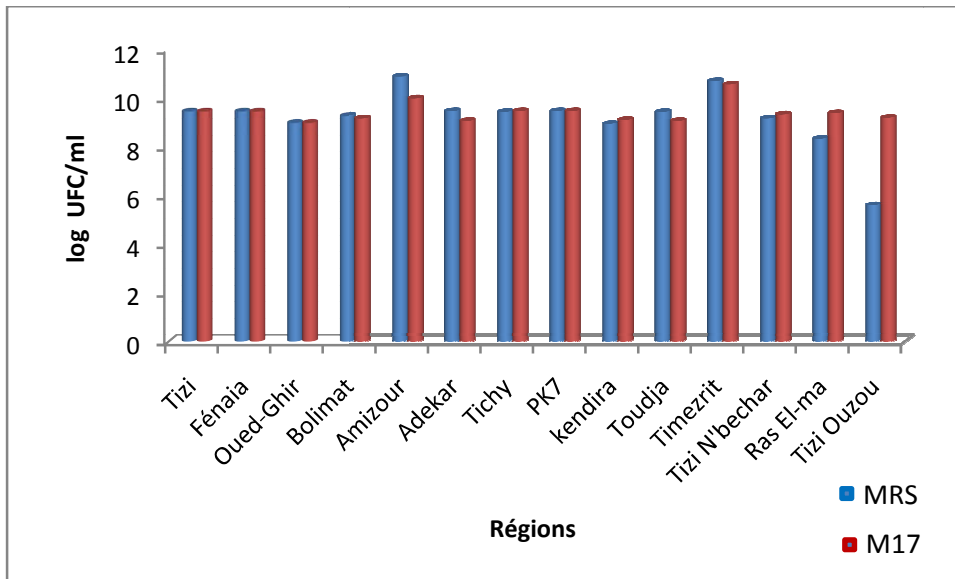


Figure 18 : Résultats du dénombrement des bactéries lactiques sur milieu MRS et M17.

Nous avons enregistré des valeurs très proches sur milieu MRS et sur milieu M17, elles varient entre 22×10^6 UFC/ml et 81×10^8 UFC/ml. Les bactéries lactiques représentent la flore la plus abondante dans tous les échantillons du l'ben, elles fermentent le lactose en acide lactique (Labioui et *al.*, 2005)

Ces résultats sont supérieurs à ceux enregistrés au Maroc par Marnissi et *al.* (2013) avec une charge moyenne de 5×10^5 UFC/ml.

II.4.Dénombrement des coliformes totaux :

Les résultat de dénombrement des coliformes totaux sont illustrés dans la figure 19 (Tableau II , annexeII,).

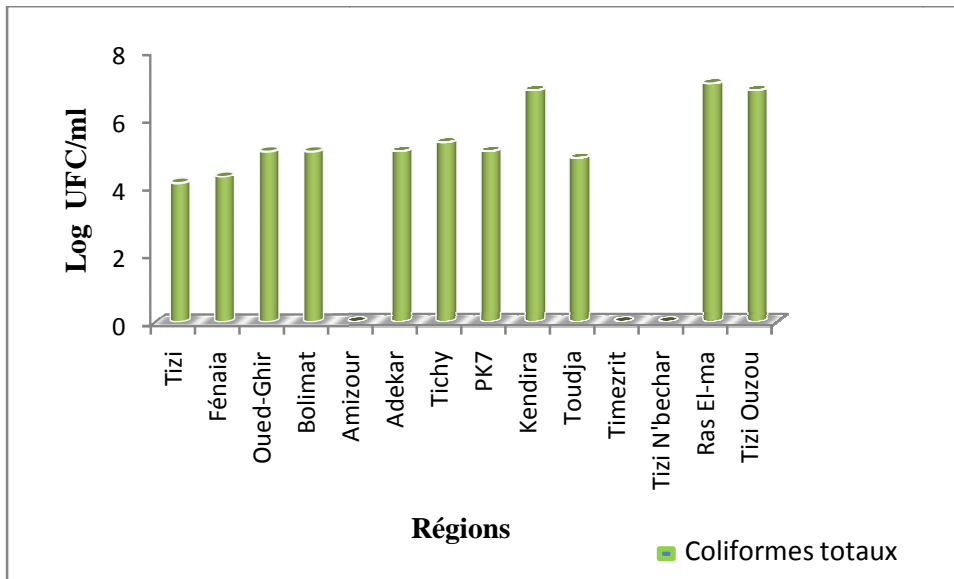


Figure 19: Résultat du dénombrement des coliformes totaux.

On a enregistré la présence des coliformes totaux dans 11 échantillons avec des valeurs qui se situent entre 13×10^2 UFC/ ml et 79×10^4 UFC/ml. Les échantillons collectés de Ras El-ma et de Kendira ne répondent pas aux normes de J.OR.A(1998) qui tolère 3×10^4 UFC/ml pour cette flore. Néanmoins, les résultats obtenus montrent une absence des coliformes totaux dans les échantillons collectés d'Amizour, Timezrit et Tizi N' bechar.

Tantaoui Elaraki (1983) au Maroc a signalé une charge qui varie entre 43×10^3 UFC/ml et 85×10^3 UFC/ml.

II.5.Recherche d'*Escherichia coli* :

Les résultats de la recherche d'*Escherichia coli* dans les échantillons de l'ben ayant représentés des taux de coliformes sont représentés dans le tableau IV, (annexe II).

La présence d' *Escherichia coli* est confirmée(selon la méthode décrite dans la partie matériel et méthodes, page 15) dans sept échantillons représentant les résultats suivants : tube BCPL positif, formation d'anneau rouge après l'ajout de réactif de Kovacs pour le tube d'eau peptonée exempte d'indole, et formation des colonies violette à éclat métallique verdâtre sur milieu EMB.(Figure 20).

Cette confirmation d'*E.coli* est complétée par les tests résumés dans l'annexe I(tableau II) . ces derniers , ont montré les résultats suivants :teste de citrate de simmence (-),test de mannitol(+),test de TSI :lactose (+),glucose,(+),gaz (+),H₂S(-).(figure 20)



Figure 20 : Résultats de confirmation de présence *d'E.coli*

II.5.Dénombrement des streptocoques totaux et recherche des streptocoques fécaux :

Les résultats de dénombrement des streptocoques totaux sont représentés dans la figure 21 (Tableau II, annexe II).

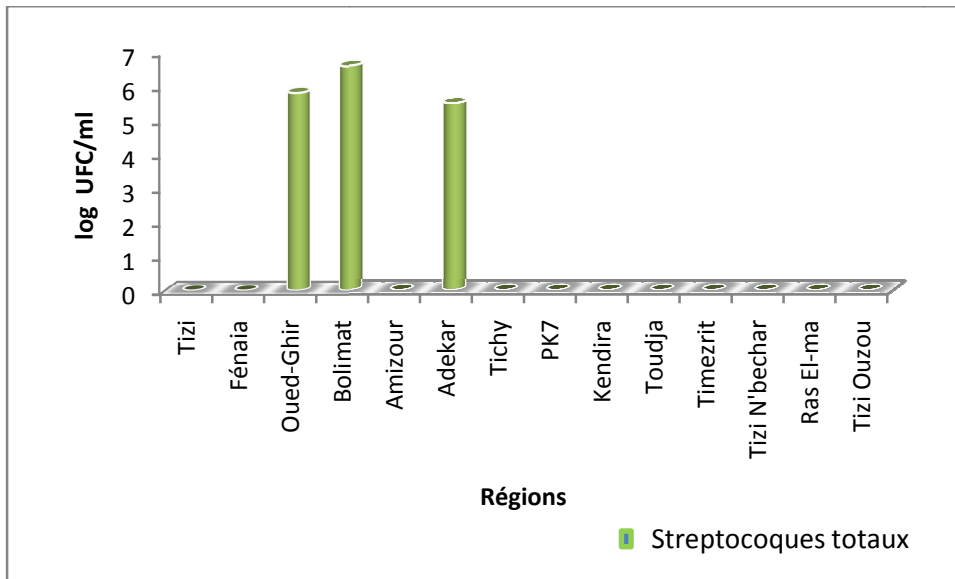


Figure 21 : Résultats du dénombrement des streptocoques totaux

On a enregistré l'absence des streptocoques totaux dans 11 échantillons, par contre leur présence est enregistrée dans les échantillons de Oued-Ghir (66×10^3 UFC/ml), Bolimat (4×10^4 UFC/ ml) et Adekar (32×10^3 UFC/ ml). Le repiquage de 1 ml de ces tubes sur des tubes d'EVA Litsky a montré la présence d'une pastille violette dans les trois tubes, ce qui confirme la présence des streptocoques fécaux dans les trois échantillons. Ces résultats témoignent de la mauvaise qualité hygiénique des échantillons de l'ben.

Les études de Marnissi et *al.*(2013) au Maroc ont montré la présence des streptocoques fécaux avec une charge de $8,4 \times 10^4$ UFC/ml (Tantaoui Elaraki et *al.*,1983).

II.6.Dénombrement des staphylocoques et recherche de *Staphylococcus aureus* :

Les résultats de dénombrement des staphylocoques sont représentés dans le tableau II (annexe II) et la figure 22.

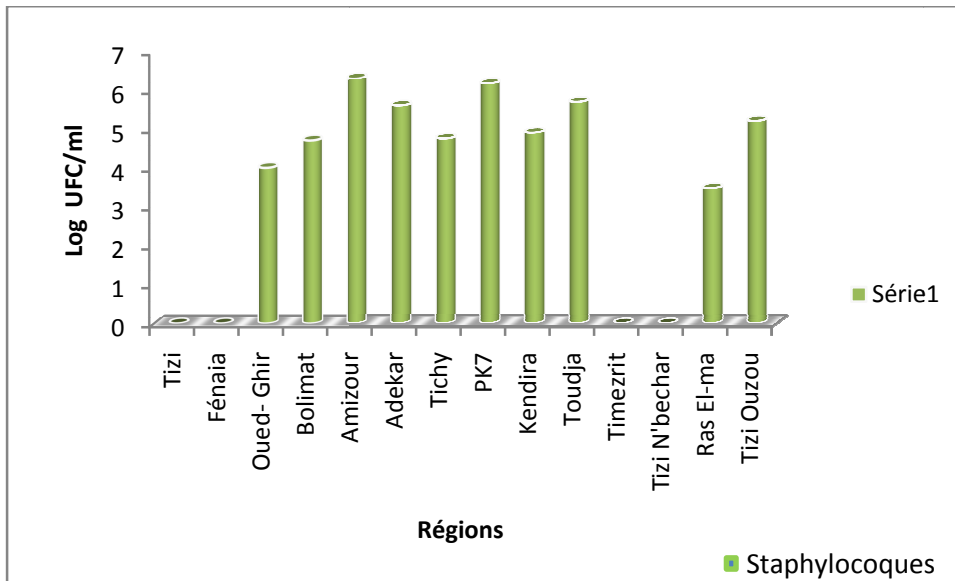


Figure 22: Résultats du dénombrement des staphylocoques

On a enregistré la présence des staphylocoques dans 10 échantillons avec une charge qui varie entre 1×10^3 UFC/ml et 2×10^5 UFC/ml ce qui est supérieur aux normes de JORA (1998) qui tolère une charge de 3×10^2 UFC/ml. On a noté une présence des staphylocoques dans l'échantillon de Ras El-ma avec une charge de 3×10^2 UFC/ml. Cependant ils sont absents dans les échantillons collectés de Timezrit et Tizi N'bechar .ces derniers sont conformes aux normes de JORA(1998).

La présence de *Staphylococcus aureus* (dans la dilution 10^{-1}) est confirmée dans les échantillons collectés de Tizi Ouzou, Ras El-ma, Kendira, Bolimat et Oued Ghir. Les tests de confirmation pour cette espèce ont donné les résultats suivants : coloration de Gram positive, cocci en grappe de raisin, test de catalase et de coagulase positif (Figure 23).

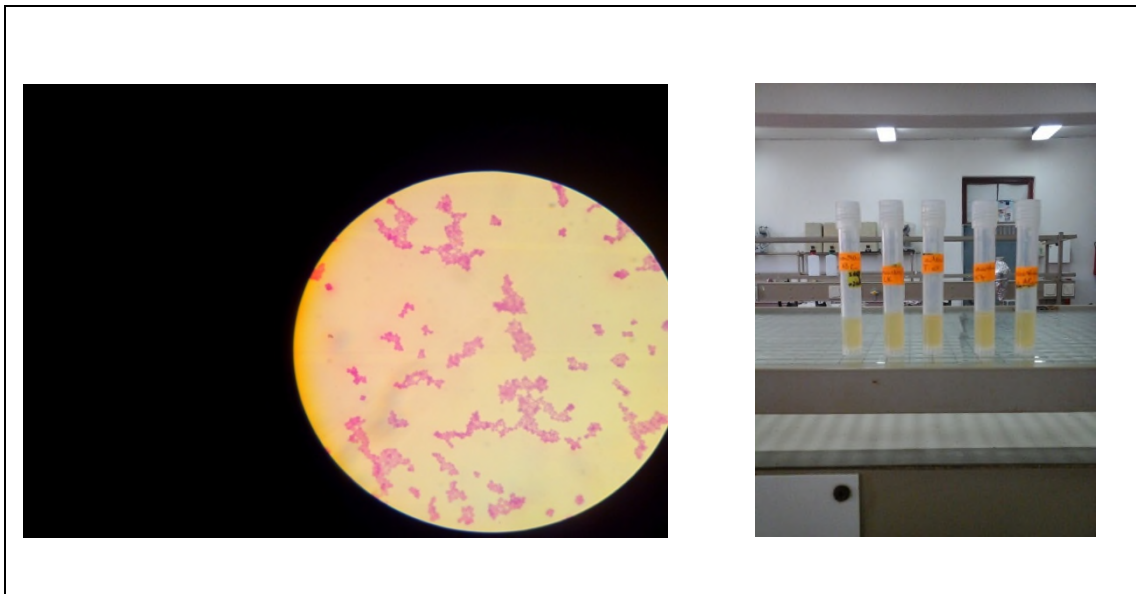


Figure 23 : Coloration de Gram (G : $\times 100$) et test de coagulase pour *Staphylococcus aureus*.

II.8.Dénombrement des Clostridium sulfito- réducteurs :

Les résultats du dénombrement de CSR sont représentés dans le tableau II (annexe II)

Les résultats obtenus montrent une absence de CRS dans tous les échantillons (dans la dilution 10^{-1}). Néanmoins, cette flore est retrouvée dans le l'ben selon les travaux de Marnissi au Maroc avec une charge de $1,8 \pm 2 \text{ UFC/ml}$ (Marnissi et *al.*, 2013),

II.9.Recherche de Salmonella :

Une absence de *Salmonella* est enregistrée dans tous les échantillons étudiés (dans la dilution 10^{-1}) ce qui répond aux normes (absence) de JORA(1998). Selon (Dubois et *al.*, 1987), *Salmonella* ne résiste pas à des pH compris entre 4,6 et 4,8 ce qui explique l'absence de ce germe pathogène dans nos échantillons .

III. Identification des bactéries lactiques :

III.1. Etude morphologique :

Les observations macroscopiques nous ont permis de décrire les colonies obtenues sur milieu solide (la forme, le contour..). Le repiquage sur milieu MRS et M17 a révélé des colonies rondes de couleur blanchâtre. (Figure24).

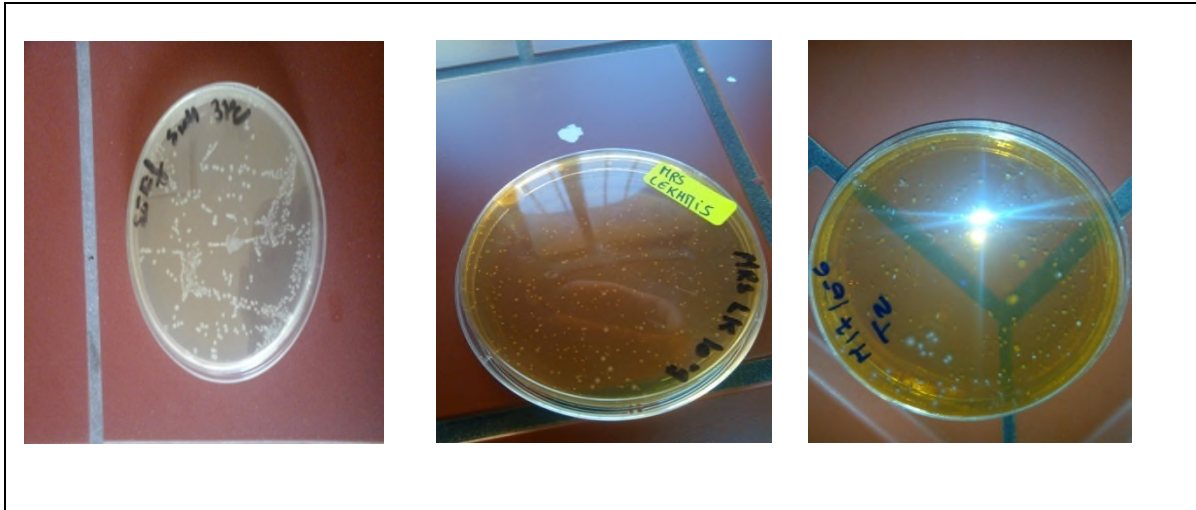


Figure 24 : Aspect des bactéries lactiques sur milieu MRS et M17.

En milieu liquide, elle se base sur l'observation du trouble.



Figure 25 : Croissance des bactéries lactiques sur bouillons MRS et M17

III.2 Etude microscopique :

La caractérisation microscopique est basée sur la coloration de Gram (annexe IV, tableau I).

En effet, l'identification du genre est d'abord orientée par la morphologie (annexe IV, tableau I) puis par le profil fermentaire (tableau II, annexe IV) et les conditions physiologiques de croissance (Pilet et *al.*, 2005).

La coloration de Gram a montré des bactéries de forme cocci, bacille ou petit bâtonnet de couleur violette (Figure 26).

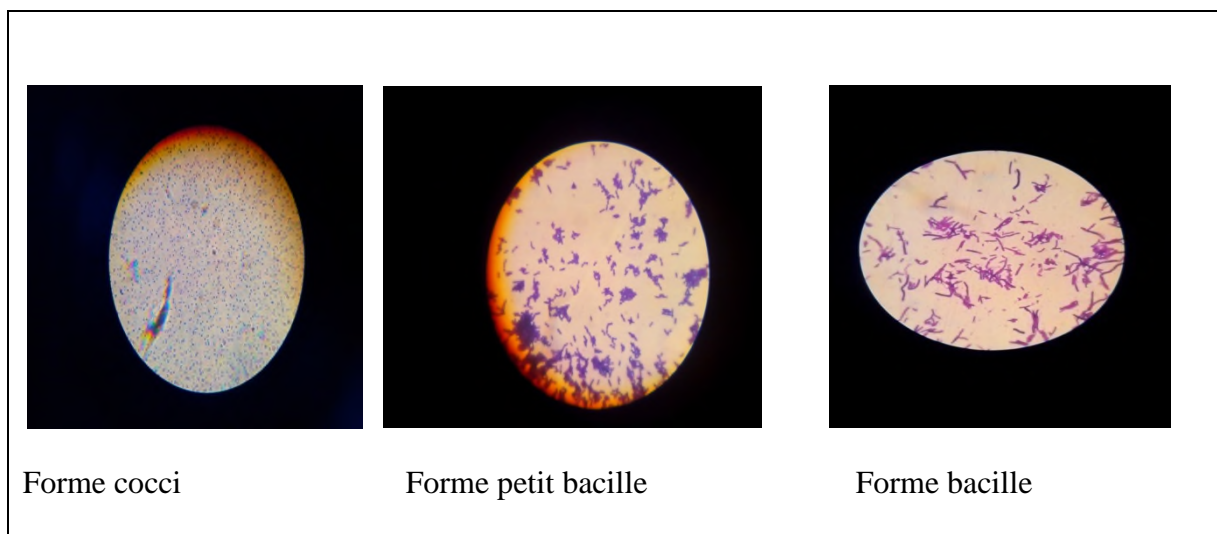


Figure 26 : Différentes formes des bactéries lactiques après coloration de Gram. (G : $\times 100$).

En vue de l'identification de la flore lactique, les isolats à Gram positif de forme bâtonnet ou de coques, dépourvue de catalase sont retenus.

Effectivement sur un totale de 116 isolats, 91 isolats (Gram+ et catalase -) ont été retenus pour la suite de l'identification. Ces derniers comportent 48 isolats de forme cocci et 13 de forme bacille et 30 de petit bâtonnet (coccobacille) (tableau I, annexe IV).

L'identification au stade du genre est réalisée on ce basant sur leurs caractéristiques morphologiques (tableau I, annexe IV) et biochimique.

Les résultats du test de la production de gaz montre que pour les 48 isolats de forme cocci (tableau II, annexe IV) ,38 isolats sont homofermentaires. Seul 10 isolats produisent du gaz, donc sont des hétérofermentaires. Ces derniers, sont considérés comme étant appartenant probablement au genre *Leuconostoc*.(figure 27).



Figure 27 : profil fermentaire des bactéries lactiques

III.3. Identification des bactéries lactiques de forme cocci :

Afin de différencier entre les isolats de forme cocci probablement appartenant au genre *Lactococcus*(*Lc*) de ceux appartenant au genre *Streptococcus* (*St*), *Pediococcus* (*Pc*) et *Leuconostoc* (*Ln.*) des tests de croissance a différentes températures (30°C,37°C et 45°C), et à différentes concentrations de NaCl (2 % ,4% et 6,5%) et à différentes valeurs de pH (4 et 4,5) (Tableau III ,annexe IV) ont été réalisées.

11 isolats présentent une croissance négative à 6,5 % de NaCl et ne croient pas à 45°C (Mésophiles) ce qui les classes probablement dans le genre *Lactococcus*, seul 2 isolats ont présenté une croissance positive à pH =4 (S : 03' Oued-Ghir et S : 06 Tizi N'bechar). Trois isolats ont présenté une croissance positive à pH =4,5 (S : 04 Tizi, S : 02' Oued-Ghir, S : 06 Tizi N'bechar)

Un total de 08 isolats cocci homofermentaires sont considérés comme appartenant au genre *Streptococcus* ,7 isolats présentent une croissance positive à 45°C. Ce sont donc des

thermophiles. Néanmoins, aucune croissance n'est observée ni à 6,5% de NaCl ni à pH= 4 ou à pH= 4,5 (Tableau III, annexe IV).

Cependant 1 isolats (S : 02 PK7) ne croit pas à 45°C (mésophile), ni à pH=4 ou à pH=4,5 mais elle est capable de croitre à 6,5 de NaCl.

19 isolats (tab III, annexe IV) restants présentent des critères physiologiques (cocci homofermentaires) et

Biochimiques (croissance à 45°C, différents % NaCl et à différentes valeurs de pH

correspondants selon les données bibliographiques suivant le tableau de référence effectué par (Axelsson, 2004).(Tableau I ,annexe III) au genre *Pediococcus* .

17 isolats présentent une croissance positive à 45°C et à 6,5 % de NaCl à part les souches (S : 03 Fénaia, S : 04 Amizour, S : 07 Tichy) qui présentent des croissances variables à 6,5 % de NaCl, et une croissance négative à pH= 4 et variable à pH=4,5 selon les souches.

Les deux isolats restants présentent une croissance négative à 45°C et une croissance positive à 6,5 % de NaCl, par contre la souche (S : 03" Oued- Ghir) présente une croissance positive à pH= 4 et à pH= 4,5 contrairement à la souche (S : 02 PK7) qui présente une croissance négative à pH=4 et à pH= 4,5.

III.3.1. Résultats des tests d'identification des lactocoques :

Selon les données bibliographiques(Tableau II ,annexe III) et les résultats des tests biochimiques (tableau IV ,annexe IV) et de la croissance à pH=4,5 et à pH=6,5 ;les souches(S :02' et S : 03'MRS Oued-Ghir),la souche(S :04MRS Tizi),la souche(S :01 MRS Toudja),la souche(02 MRS Amizour),la souche(05M17 Tizi N'bechar) et la souche (S :03 MRS PK7) sont probablement des souches de *Lc.gravieae* ,de *Lc. plantarum* ou *Lc .lactis ssp lactis*.

La souche (S : 02 MRS Ras-Elma) est probablement une souche de *Lc.raffinolactis* , *Lc. lactis ssp hordniae* ou de *Lc. lactis ssp cremoris* .Sachant que cette souche ne croit pas à pH=6,5 donc elle peut être une souche de *Lc.raffinolactis*

Les souches (S : 06 M17 Tizi N'bechar,S :01,S :03 MRS Tizi) sont probablement des souches de *Lc.piscium*.

Les souches (S : 01MRS et S : 06 M17 Tizi) sont probablement des souches de *Lc. raffinolactis*. La souche (S : 03 MRS Tizi) est une souche de *Lc. lactis ssp cremoris*. La souche (S :02' MRS Oued-Ghir) est probablement un *Lc. plantarum* et La souche (S :05 M17 Tizi N'bechar) est probablement une souche de *Lc. lactis ssp lactis*.

Selon le profil fermentaire (Tableau V, annexe IV) de différentes souches, et en se basant sur les données bibliographiques (Tableau III, annexe III), nous pouvons déterminer l'espèce probable de chaque souche.

En effet la souche (S :03' Oued-Ghir :arabinose+,mannitol-,lactose- est une souche de *Lactococcus plantarum*.

Le reste des souches (S :04MRS Tizi), (S :01 MRS Toudja), (02 MRS Amizour), (S :03 MRS PK7) correspondent au profil de croissance et fermentaire de *Lc.lactis ssp lactis* (Tableau IV, annexe III).

Effectivement les lactocoques peuvent se retrouver dans les aliments comme les produits laitiers, elles sont utilisées dans l'industrie agro-alimentaire. Les espèce les plus importantes sont : *Lactococcus lactis* et *Lactococcus cremoris*. (Stiles et Hopzapfel,1997).

En conclusion, sur un total de 11 souches présumées du genre *Lactococcus* : une souche de *Lc. lactis ssp cremoris*, deux souches de *Lc.plantarum*, trois souches de *Lc. raffinolactis*, et cinq souches de *Lc.lactis ssp lactis*.(tableau IX) sont obtenues.

Tableau IX : Les espèces présumées du genre *Lactococcus* :

Souche (code)	Espèce	Nombre de souches
S :04 MRS Tizi S :01 MRS Toudja S :02 MRS Amizour S:03 MRS PK7 S:05 M17 Tizi N'bechar	<i>Lc.lactis ssp lactis</i>	05
S:03'MRS Oued-Ghir S:02'MRS Oued-Ghir	<i>Lc.plantarum</i>	02
S:02MRS Ras-Elma S:01MRS Tizi S:06 M17 Tizi N'bechar	<i>Lc.raffinolactis</i> <i>Lc. raffinolactis</i> <i>Lc. raffinolactis</i>	03
S:03MRS Tizi	<i>Lc .lactis ssp cremoris</i>	01

III.3.2. Résultats des tests d'identification des streptocoques :

Les résultats des tests physiologiques et biochimiques (tableau VI, annexe IV) montrent que sur les 08 souches présumées du genre *Streptococcus* ,07 souches montrent une croissance positive à 45°C et un profil fermentaire correspondant à la souche *Streptococcus thermophilus*.

En effet, seule la souche de *Streptococcus thermophilus* fait partie des bactéries lactiques. Les streptocoques lactiques se distinguent par leur capacité de croître à 45°C (Garvie et Farraow,1986). *Streptococcus thermophilus* est l'une des bactéries lactiques thermophiles largement employée en tant que levain dans la fabrication de certains produits laitiers fermentés (yaourt,fromage à patte cuite...)(Hol et al.,2005).

La souche mésophile(S :02 MRS PK7) correspond à la souche pathogène *Streptococcus agalactiae* retrouver généralement dans les mammites. (Hol et al., 2005).

En résumé, sur un totale de 08 souches présumées du genre *Streptococcus*, 7souches de *Streptococcus thermophilus* et une souche de *Streptococcus agalactiae* sont identifiées. (tableau X).

Tableau X : Les espèces du genre *Streptococcus* :

Souche	Espèce	Nombre de souches
S :02 MRS PK7	<i>Streptococcus agalactiae</i>	01
S :01 M17Oued-Ghir S :04 M17 Oued-Ghir S :04 MRS Oued-Ghir S :01 M17 Amizour S :03 M17Amizour S :F M17 Adekar S:04 M17 Tizi N'bechar	<i>Streptococcus thermophilus</i>	07

III.3.3. Résultats des tests d'identification des pediocoques :

Les résultats des tests de croissances à différentes températures, à différentes valeurs de pH et à différentes concentrations de NaCl ont donné les résultats suivants :

19 souches présumées du genre *Pediococcus* sont homofermentaires. Un total de 17 souches homofermentaires sont des souches thermophiles (Tableau VII, annexe IV)

On se basant sur ces résultats et les données bibliographiques résumées dans le tableau (Tableau V, annexe III), nous avons attribué six souches à l'espèce *Pc.halophilus*. Cependant, les deux souches mésophiles (S :02 MRS ,S :03"MRS Oued-Ghir) appartiennent probablement à l'espèce *Pc.acidilactici*,

Le profile fermentaire (Tableau VIII ,annexe IV) obtenu pour ces souches confirme cette appartenance probable.

Les pediocoques sont des bactéries micro-aérophiles à besoins nutritifs complexes, leur développement nécessite plusieurs facteurs de croissance, plusieurs espèces sont acidophiles, elles sont saprophytes et contaminent les végétaux. Se sont en générale des agents de dégradation de brasserie (Pèrez,2005).

En conclusion, sur un total de 19 souches présumées du genre *Pediococcus*, 17 souches sont identifiées comme étant *Pediococcus halophilus* et deux autres comme étant *Pediococcus acidilactici*. (Tableau XI).

TableauXI : Les espèces présumées du genre *Pediococcus* :

Souche	Espèce	Nombre de souches
S :02 MRS PK7 S :03" MRS Oued-Ghir	<i>Pediococcus acidilactici</i>	02
S:01 MRS Fénaia S:02 MRS Fénaia S:03 MRS Fénaia S:02 M17 Oued-Ghir S:03 MRS Oued-Ghir S:04 MRS Bolimat S:03 MRS Bolimat S:01 M17 Timezrit S:02 M17Timezrit S:05 M17Timezrit S:04 M17A mizour S:04 MRS Amizour S:C M17Adekar S:01 MRS Adekar S:07 MRS Tichy S:01 M17 Tizi N'bechar S:01 M17 PK7	<i>Pediococcus halophilus</i>	17

III.3.4. Résultats des tests d'identification des leuconostocs:

Sur un total de 10 isolats présumés du genre *Leuconostoc*, deux souches ont présenté une croissance positive à 45°C (tableau IX ,annexe IV) ,ce qui les classes parmi les souches thermophiles.

Les résultats des différents tests physiologiques et biochimiques sont résumés dans le (tableau IX ,annexe IV). En se basant sur les données bibliographiques (annexe III, tableau VI),on peut attribuer ces souches à l'espèce de *Ln.oenos*. Effectivement, le profile fermentaire vient appuie cette hypothèse (tableau X ,annexe IV).

Les souches restantes sont des souches mésophiles appartenant probablement aux espèces *Ln. mesentroides subsp mesenteroides*(S :05 M17 Oued-Ghir,S :01 MRS Bolimat,S :02 MRS Tichy).Deux espèces de *Ln. lactis*(S :03 M17 Adekar,S :04 M17 Adekar), une espèce de *Ln. mesenteroides sub sp dextranium*(S :06 MRS PK7),une espèce de *Ln. mesenteroides subsp cremoris*(S :05 MRS PK7)et enfin ,une espèce de *Ln. paramesenteroides* (S :01 M17 Bolimat).(Tableau XII)

Homakov(1975) a isolé du lait, des leuconostocs appartenant principalement à l'espèce *Ln. mesenteroides*. Les leuconostocs rentrent fréquemment dans la composition des levains pour la fabrication de nombreux produits laitiers (De Vayod et al.,1974).

Tableau XII : Les espèces attribuées au genre *Leuconostoc* :

souche	Espèce	Nombre de souches
S :05 M17 Oued-Ghir 01 MRS Bolimat 02 MRS Tichy	<i>Ln. mesentroides subsp mesenteroides</i>	03
S :03 M17 Adekar S :04 M17 Adekar	<i>Ln. lactis</i>	02
S :06 MRS PK7	<i>Ln. mesenteroides sub sp dextranium</i>	01
S :05 MRS PK7	<i>Ln. mesenteroides subsp cremoris</i>	01
S :01 M17 Bolimat	<i>Ln. paramesenteroides</i>	01
S :01 MRS Kendira S :02 M17 Adekar	<i>Ln. oenos</i>	02

En résumé ,les résultats obtenus dans cette étude montrent que pour un totale de 48 isolats cocci nous avons obtenus 4 genres différents (*Lactococcus*, *Streptococcus* ,*Pediococcus*; *leuconostocs*) (Tableau XIII). Les souches attribuées à chaque genre ont été classées dans un minimum de deux à six espèces différentes, le plus grand nombre d'espèces est obtenu pour le genre *Leuconostoc*.

Tableau XIII : Les genres et les espèces des isolats en forme cocci :

Genre	especies	nombres
<i>Lactococcus</i>	<i>Lc. lactis</i> subsp <i>cremoris</i>	01
	<i>Lc. lactis</i> subsp <i>lactis</i>	05
	<i>Lc. plantarum</i>	02
	<i>Lc. raffinolactis</i>	03
<i>Streptococcus</i>	<i>St. thermophilus</i>	07
	<i>St. agalactae</i>	01
<i>Pediococcus</i>	<i>Pc. halophilus</i>	17
	<i>Pc. acidilactici</i>	02
<i>Leuconostocs</i>	<i>Ln. mesenteriodes</i> subsp <i>mesenteriodes</i>	03
	<i>Ln .lactis</i>	02
	<i>Ln. paramenteriodes</i>	01
	<i>Ln. mesenteriodes</i> subsp <i>dextranum</i>	01
	<i>Ln. mesenteriodes</i> subsp <i>cremoris</i>	01
	<i>Ln. oenos</i>	02

III.4 Résultats des tests d'identification des lactobacilles :

Parmi les 91 isolats ,43 sont de forme bacille dont 30 isolats sont de petits bâtonnets. les 43 isolats sont ainsi attribués au genre *Lactobacillus* (Tableau XI ,annexe IV).

Parmi la totalité des lactobacilles, 13 isolats ne produisent pas de gaz donc sont homofermentaires , cependant, six souches présentent une croissance positive à 45°C donc elles sont thermophiles et 7 souches ne croient pas à 45°C. se qui les classent parmi les mésophiles. (Tableau XII, annexe IV).

Selon (kandler et *al.*, 1986) toutes les souches lactobacilles homofermentaires qui s'avèrent croissance positive à 45°C sont : *Lb. helveticus* , *Lb. delbrueki* subsp *bulgaricus* , *Lb. delbrueki* subsp *lactis* et *Lb. acidiphilus*. Les sept souches restantes ne croissent pas à 45°C

donc c'est des souches mésophiles. ces souches peuvent être des souches de *Lb. casei* et / ou des *Lb. plantarum*.

Les résultats de l'étude morphologique ont montré que sur 43 isolats de lactobacilles, 30 isolats sont des petits bacilles, dont 25 isolats ne produisent pas de gaz (homofermentaires) Parmi ces 25 isolats, 19 isolats s'avèrent croissance positive à 45°C (thermophiles) et six isolats sont des mésophiles.

Les cinq isolats de petit bacilles restant sont des hétérofermentaires (gaz+), dont trois présentent une croissance positive à 45°C (thermophiles) et deux isolats sont des mésophiles (tableau XIII, annexe IV).

On se basant sur les résultats des tests physiologiques et biochimiques résumés dans le (Tableau XII, annexe IV) et (Tableau XIV, annexe IV) et ont tenant compte des données bibliographiques du tableau VII (annexe III), nous avons attribué les 13 souches du genre *Lactobacillus* au différentes espèces, par conséquent, nous avons attribué cinq souches à l'espèce de *Lb. rhamnosus* (S :C, S :A, S :01, S :03, S :04 des régions de :Amizour, Adekar et Tichy respectivement), 1 souche (S :01Amizour) de *Lb. helveticus*, 2 souches (S :03`Oued- Ghir, S :02 Toudja) de *Lb. casei* subsp *alactosus* et 3 souches (S :A Amizour, S :09Tichy, S :07 Tizi N'bechar) de *Lb. Amylophilus* et enfin 2 souches (S :B Amizour, S :03 Adekar) de *Lb. plantarum*.

Afin de déterminer les souches (petit bacilles) homofermentaires thermophiles appartenant au genre *Lactobacillus*, des tests de croissances à différentes valeurs de pH et de NaCl (Tableau XV, annexe IV) et le test de fermentation de sucres (tableau XVI, annexe IV) ont été réalisés.

On se basant sur les résultats des test physiologiques et biochimiques résumés dans le tableau (Tableau XIII, annexe IV) et (Tableau XV, annexe IV) et on tenon compte des données bibliographiques (Tableau VII, annexe III), nous avons pu attribuer les 19 souches du genre *Lactobacillus* à différentes espèces, par conséquent nous avons attribué 16 souches à *Lb.rhamnosus* (S :02Bolimate),(S :DAmizour),(S :02 ;S :04 ;S :05Adekar),(S :03 ;S :04 ;S :02 ;S :02 ;S :01 Tichy),(S :02 ;S :03 ;S :01 Tiz N' bechar) ;(S :03 PK7) ;(S :01 Ras alma) ;(S :02 Tizi Ouzou) et 01 souche à *Lb. helveticus* (S :04 PK7), et 2 souches à *Lb. lactis*(S :06 et S :07).

Afin de déterminer les espèces des souches homofermentaires mésophiles appartenant au genre *Lactobacillus* (petits bacilles), des tests de croissances à différentes températures,

concentrations de NaCl et différentes valeurs de pH (Tableau XVII ,annexe IV) ; et un test de fermentation des sucres (Tableau XVIII ,annexe IV) ont été réalisés .

On se basant sur les résultats des tests physiologiques et biochimiques résumés dans le tableau XIII (annexe IV) et tableau XVI (annexe IV) et on tenon compte des données bibliographiques illustrées dans le tableau VII (annexe III) , nous avons pu attribuer les six souches du genre *Lactobacillus* à différentes espèces .En effet, trois souches ont été attribuées à espèces *Lb. amylophilus* (S :08 Tichy) ;(S :04 Touja) ;(S :08 TiziOuzou) et deux souches à l'espèce de *Lb. plantarum*(S :D'Amizour) ;(S :06 Tichy) et enfin une souche à la sous espèces *Lb. casei* subsp *alactosus*.

Dans le but de déterminer les espèces des souches hétérofermentaires thermophiles appartenant au genre *Lactobacillus* (petits bacilles) des tests de croissance à différentes températures et à différentes concentration de NaCl et à différentes valeurs de pH (Tableau IXX ,annexe IV) et un test de fermentation des sucres(tableau XX ,annexe IV) ont été réalisés .

On tenon compte des données bibliographiques rapportées par sneath et *al* (1986), nous avons pu attribuer les trois souches(S :B Adekar ;S :04 Tichy ;S :03 kendira) hétérofermentaires thermophiles du genre *Lactobacillus* à l'espèce *Lb. fermentum*.

Afin de déterminer les espèces des souches hétérofermentaires mésophiles appartenant au genres *Lactobacillus* (petits bacilles) des tests de croissances à différentes températures et à des concentrations différentes de NaCl et à différentes valeur de pH (Tableau XXI ,annexe IV) et un test de fermentation ont été réalisés.(Tableau XXII,Annexe IV).

On se basant sur les données bibliographiques décrite par Sneath et *al*. (1986), nous avons pu attribuer les deux souches hétérofermentaires mésophiles(S :06 PK7 et S :01 Tizi Ouzou) du genre *Lactobacillus* à l'espèce *Lb. brevis*.

En générale, les résultats obtenus dans cette étude, montrent que pour un totale de 43 isolats bacilles, nous avons attribué les sept souches à différentes espèces (Tableau IV).

Tableau IV : Les espèces attribuées au genre *Lactobacillus* :

Genre	Espèces	Nombre de souches
<i>Lactobacillus</i>	<i>Lb. rhamnosus</i>	21
	<i>Lb. amylophilus</i>	06
	<i>Lb. plantarum</i>	04
	<i>Lb. casei subsp alactosus</i>	03
	<i>Lb. helveticus</i>	02
	<i>Lb. brevis</i>	02
	<i>Lb. fermentum</i>	03
	<i>Lb. lactis</i>	02

conclusion

L'étude réalisée porte sur l'évaluation des paramètres physicochimiques et microbiologiques du l'ben traditionnel produit dans certaines régions de trois wilayas en Algérie (Bejaia, Sétif et Tizi Ouzou), ainsi que sur l'isolement, la purification et l'identification partiel de la flore lactique caractérisant les échantillons de l'ben analysé.

Les analyses physicochimiques ont montrés des valeurs variables entre les différents échantillons pour les quartes paramètres (acidité Dornic, matière grasse et densité) étudiés .Les valeurs du pH et de l'acidité Dornic du l'ben sont plus ou moins satisfaisants vis à vis des critères fixés par JORA(1993). Les échantillons de l'ben montrent une certaine richesse en matière grasse avec une densité très faible qui se rapproche à celle du lait cru de vache.

Sur le plan microbiologique, les échantillons sont caractérisés par une flore totale aérobie mésophile très élevée avec une moyenne de $(5,02 \times 10^{11}$ UFC/ml) et par une flore lactique importante de l'ordre de $(1,11 \times 10^{10}$ UFC /ml).

Concernant la qualité hygiénique des échantillons de l'ben, nous avons enregistré une présence des coliformes totaux ($1,8 \times 10^6$ UFC /ml), streptocoques totaux ($3,5 \times 10^6$ UFC/ml) et de staphylocoques($2,3 \times 10^5$ UFC/ml) . Des taux élevés en levures ($3,2 \times 10^8$ UFC/ml) et moisissures ($9,1 \times 10^6$ UFC/ml) ont été retrouvé dans la majorité des échantillons, ce qui confirme le manque d'hygiène. La présence d'*E.coli* est notée dans la moitié des échantillons étudiés témoigne de la mauvaise qualité hygiéniques de ces échantillons .En effet, cette dernière et l'un des témoins de contamination fécale.

La présence de *Staphylococcus aureus* dans certains échantillons (05 échantillons) présente un vrais danger pour la santé de consommateur .Il serait également salutaire de fixer des normes physico-chimiques et bactériologique afin d'assurer aux consommateurs des qualités satisfaisantes aux plan nutritionnelles, organoleptiques et hygiénique.

Néanmoins, ces échantillons de l'ben montrent une richesse en flores lactiques. effectivement : sur 91 isolats Gram positif et catalase négatif retenus pour une identification morphologiques et biochimiques, 48 isolats de forme cocci sont obtenus attribués à quatre genres différents (11 isolats du genre *Lactococcus* ,8 du genre *Streptococcus* ,19 de genre *Pediococcus* et 10 de *Leuconostoc*) .48 isolats sont identifiés comme des souches du genre *Lactobacillus* .

Les résultats des tests de fermentation des sucres, nous a permis de déterminer les différentes espèces des genres identifiés. Effectivement, les espèces : *Lc. lactis ssp lactis* (n=05), *Lc. plantarum*(n=02) ,*Lc. raffinolactis*(n=03) ,*Lc. lactis ssp cremoris*(n=01),*St. agalactiae*(n=01), *St.thermophilus*(n=07),*Pc. halophilus*(n=17),*Pc. acidilactici*(n=02),*Ln. mesenteroides sub sp mesenteroides*(n=03),*Ln. lactis*(n=02),*Ln. mesenteroides subsp dextranum*(n=01),*Ln. mesenteroides subsp cremoris*(n=01),*Ln. paramesenteroides*(n=01),*Ln. oenos*(n=02),*Lb. rhamnosus*(n=21),*Lb. amylophilus*(n=06),*Lb. plantarum*(n=04),*Lb. casei subsp alactosus*(n=03),*Lb. helveticus*(n=02),*Lb. brevis*(n=02),*Lb. fermentum*(n=03),*Lb. lactis*(n=02).ont été obtenus.

Perspectives :

Notre étude concernant l'identification reste préliminaire et partielle, elle est basée sur quelques tests physiologiques et biochimiques.

Afin d'avoir des résultats plus fiables qui permettes de mieux différencier entre les espèces on propose de compléter cette étude par un plus grand nombre de tests exemple :

- Le test de fermentation de l'esculine
- Le test de fermentation de l'arginine.
- La croissance dans le lait bleu de Sherman..ext.

Aussi, pour la suite de notre travail nous proposons de

- Confirmer l'identification des espèces isolées à l'aide d'une Galerie API 50 CHL.
- L'analyse d'un plus grand nombre d'échantillons de Lben
- Une identification génotypique des souches isolées.
- L'étude des critères technologiques des souches isolées.
- Etude de l'activité antimicrobienne des espèces isolées et leurs capacités de produire des bactériocines.
- Etude de l'effet probiotique des espèces isolées.
- En fin nous proposons de cibler d'autres régions afin d'avoir une plus grande variété d'espèces pour déterminer la nature des ferments caractérisant le l'ben traditionnel.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

AFNOR .(2001) .Lait –Détermination de la teneur en matière grasse –Méthode gravimétrique (méthode de référence) .21 p.

Alias C .(1984) .Science du lait :principes et techniques laitières .4^{ème} Edition .Edition Sepaic .Paris .814 pp.

Ammor MS. (2004).Ecosystème microbien d'un atelier fermier de salisson : identification et propriétés des bactéries lactiques. Thèse de Doctorat en physicochimie et qualité des bioproduits. Université de Rennes 1-France.

Ammor S ; Rachman C ; Chaillou S ; Prévost H ; Dousset X ; Zagorec M ; Dufour E and Isabelle Chevallier I.(2005). Phenotypic and genotypic identification of lactic acid bacteria isolated from a small-scale facility producing traditional dry sausages. *food microbiology*, **22** : 373-382.

Axelsson L ;Tchung TC ; dobrogoz WZ and lendfre S.(1989).Production of a broad spectrum antimicrobial substance .by *lactobacillus reuteri*.Micro.Eco.Health IS .,2:131-136.

Axelsson L .(2004). Lactic acid bacteria :classification and physiology in Lactic Acid Bacteria Microbiological and functional Aspect .Salminen S . wright AV.Ouwehard.A. 3^e ed.Marcel dekker , pp :1-66.

B

Badis A ; Gutarni D (2005).caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales « ARABIA et Kabyle ».Science technologie C-N°23, pp 30-37.

Bekhouche et Boulahrouf. (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.

Benkerroum N ; Tantaoui-Elaraki A et El Marrakchi A. (1984). Qualité hygiénique de l'Iben marocain. *Microbio. Aliment Nutr.* **2**: 199-206.

Bellancille M. (2011).condition de population et biodiversité bactérienne des produits laitiers fermenté artisanaux Sénégal .Université polytechnique de bobo-djaoulasso (thèse doctorat).

Bottazzi V et Mercenier A. (1994). Propriétés prophylactiques et thérapeutiques des bactéries lactiques. Dans : Bactéries lactiques. De Roissart H et Luquet F M. Eds, Loriga-Uriage, **2** : 409-418.

Bourgeois CM et Larpent JP. (1996). Aliments fermentés et fermentation alimentaire, Microbiologie alimentaires. Tome 2. Ed : Lavoisier Technique Documentation Lavoisier, Paris.

Boubekri C ; Tantaoui Elaraki A ; Berrada M et BenKerroum N . (1984).Caractérisation physico-chimique du Iben Marocain .

C

Chammas GI ; Saliba R and Béal C . (2006). Characterization of the fermented milk Laban|| with sensory analysis and instrumental measurements. *J. Food Sci.* **71**: S156–S162.

Cogan TM. (1996). History and taxonomy of starter cultures. In T. M. Cogan and J.-P. Accolas (ed.), Dairy starter cultures. VCH Publishers, Inc., New York, N.Y.

Coulon JB ; Pradel P and Verdier I. (1995). Effect of forage type on milk yield, chemical composition and clotting properties of milk. *Lait* **75**: 513–521.

D

De Roissart H et Luquet FM. (1994). Les bactéries lactiques. Uriage, Lorica, France, vol. 1. pp. 1-286.

De Roissart HB et Sharpe EM. (1986). Taxonomies ,métabolisme ,croissance et génétique des bactéries lactiques (Tome1).edit .lorica (chemin de saint –gorges).France p25-204.

E

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

El Marnissi B ; Belkhou R ; El Ouali lalami A et Bennani L. (2013). Caractérisation Microbiologique et physicochimique du lait cru et de ses dérivés traditionnels Marocains (Lben et Jben) .Les technologies de laboratoire ,8(33) .100-111 .

G

Garvie E. (1986). Taxonomy and identification of bacteria important in cheese fermented dairy products .In advances in the Microbiology and biochemistry and fermented milk - F-L . Davies . B·A

Gevers D. (2002). Tetracycline resistance in lactic acid bacteria isolated from fermented dry sausages. Thèse Doc. Univ. Gent. Fac. Sci. Gent. Belgium.

H

Heyman M et Heuvelin E. (2006). Micro-organismes probiotiques et régulation immunologique le paradoxe. *Nutrition clinique et métabolisme*, **20** : 85–9.

Hikmate A ; Benomar N ; Antonio C ; Caballero N ; Miguel AFF ; Pérez-Pulido R and Gálvez A. (2012). Characterization of lactic acid bacteria from naturally-fermented Manzanilla Aloreña green table olives. *Food Microbiology*, **32** :308-316.

J

Johnson ME and Steel JL . (2001). Fermented dairy products .Dans Food microbiology: Fundamentals and frontiers, 651 -664 .Edité par MP Doyle, Bouchal LR et Montville TJ .Washington: ASM press.

JORA . (1993) .Arrêté interministériel 18 aout 1003 relation spécifications et à la présentation de certain laits de consommation .pp 16-20.

JORA . (1998) .Arrêté sur interministériel de 24 janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté de 23 juillet 1994 relatif au spécifications microbiologiques se certains denrées alimentaires .pp 7-25 .

JORA n° 32 du 23 mai 2004 .Arrêté du 2è mars 2004 rendant obligatoire une méthode de dénombrement des organismes microbiens pour le lait fermenté.

JORA n° 43 du 4 juillet 2004. Arrêté du 24 mai 2004 rendant obligatoire une méthode de dénombrement des coliformes dans les laits fermentés.

JORA n° 70 du 7 novembre 2004. Arrêté du 11 septembre 2004 rendant obligatoire une méthode de préparation des échantillons pour l'essai et les dilutions en vue de l'examen microbiologique.

K

Kandler O and Weiss U .(1986). Regulae ,no-sporing gram- positif rods in Bergey's Manual of Systematic Bacteriology ·sneath P H A , M·S ,sharp MG .Holt JG , Williams and Wilknis (Eds),Baltimore , **2** : 1208-1234.

Kandler O and Weiss N .(1986).Genus Lactobacillus In :Bergays Manual of Systematic Bacteriology, Vol 2 , 9^e ed ·Sneath PHA , mair N S ,Sharpe M E,Holt JG Williams and Wilknis , Baltimore USA .

Kihel M .(1996) .Etude de la production du dioxyde de carbone par *leuconostoc mesenteroides* élément d'application en technologie fromagère type fromage bleu .Thèse de docteur d'état ,Université d'Oran Es-Seina.

L

Labioui H ; Elmoualdi L ; El yachioui M et Ouhssine M.(2005).Sélection de souches de bactéries lactiques antibactériennes. 756 p .

Lamontagne M ; Champagne CP ; Reitz AJ ; Moineau S ; Gardner N ; Lamoreuv M et Jeau Fliss G.(2002).Microbiologie du lait In science et technologie du lait.Transformation du lait .Vignola C L .Ecole polytechnique Moreal,p p :75-1285<http://Web.google.com.books>.

Larpent JP . (1996)b .Lait et produits laitiers non fermentés on Microbiologie alimentaire : Aspets microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments . Borgeois C M ,Mescl JF, Zucca J.Tome 1 ,7^e ed Doc ,Lavoisier , pp :272-291.

Larpent JP . (1997). Microbiologie alimentaire technique de laboratoire ,technique et documentation ,1041 p .

Leveau JY et Bouix M. (1993). Microbiologie industrielle : les micro-organismes d'intérêt industriel. Tec et Doc Lavoisier, Paris, France.

Lhsaoui S. (2009). Etude de procédé de fabrication d'un fromage traditionnel (klila). Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention de diplôme d'Ingénieur Université El Hadj Lakhdar Batna, Département d'Agronomie.

M

Marchal N ; Bourdon JL et Richar CL. (1991). Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries .3 ème Ed. , Doin éditeurs, Paris.

Menard JL ; Roussel P ; Masselin-Silvin S ; Puthod R ; Hetreau T ; Foret A ; Houssin B ;Aracil C et Le Guenic M. (2004). Contamination bactérienne d'une litière de stabulation libre paillée: effet de la fréquence de paillage et proposition d'une méthode pour son évaluation. In: Rencontres sur les Recherches autour des Ruminants, vol. 11. Institut de l'Elevage – INRA, Paris, pp.333–336.

O

Oberman H and Libudzisz Z. (1998). Fermented milks, In: B.J.B. Wood (Ed.), Microbiology of Fermented Foods, second ed., vol. 1, Blackie Academic & Professional, pp. 308–350.

Ouadghiri M. (2009) .Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ces dérivés "Lben" et "Jben" d'origine marocaine .Thèse de doctorat en Microbiologie et Biologie Moléculaire, Université Mohammed –V-Agdal Faculté des sciences Rabat, Maroc, 132 p .

P

Patrignani F ; Lanciotti R ; Mathara JM ; Guezoni ME and Holzapfel WH .(2006) .Potential of functional strains,isolated from traditional maasa milk .as starters for the production of fermented ùilk, int .J.Food Microbiol .**107** : 1-11 .

Paul Ross R ; Morgan S and Hill C. (2002). Preservation and Fermentation: present and future. *Int. J. Food. Microbial* . **79**: 3 – 16.

Pilet MF ; Magras Catherine et Michel Federighi .(2005) .Batteries lactiques et Bacteriologies alimentaire « compendium d'hygiène des aliments » .Federighi M . Economical, pp: 219 -242.

Pérez Guerra N. (2005) .Fed –batch pediocin production *acidilactici* NRRLB-5627 on whey .Biothechnol .Appl .Biochem . **42** :17-23.

R

Rahali V et Menard J L. (1991). Influence des variant génétiques de la B-lactoglobuline et de la k-caséine sur la composition du lait et son aptitude fromagère. *Lait* **71**: 275–297.

INRA. Recherches autour des Ruminants, vol. 11. Institut de l'Élevage , Paris, pp.333–336.

S

Samlis J ; Manrogenakis and Metaxopolose J .1994 .Characterization of lactic acid bacteria isolated from naturally formed Greek dry Salami ,inter · J food Microbial . **23** :179-196.

Sneath PHA ; Mair NS ; Sharp ME and Holt JG .(1986). Bergey's manual of Systematic Bacteriology ,vol 2 , Baltimore Williams et wilknis .

Steijns JN. (2008). Dairy products and health: Focus on their constituents or on the matrix? *Int. Dairy J.* **18**: 425–435.

Sliles ME and Holzapfel WH .(1997). Review article Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy .*Int .J-food Microbial* .**36** :1-29.

T

Tailliez P.(2001). Mini review : les bactéries lactiques ces êtres vivants apparus il ya pres de milliard d'année *Lait* ,**81** : 1-11.

Takahiro M ; Nobuhiko K and Toshinao G. (2007). Milk consumption does not affect body mass index but may have an unfavorable effect on serum total cholesterol in Japanese adults. *Nutr. Res.* **27**: 395–399.

Tantaoui-Elaraki A ; Berrada M ; El Marrakchi A et Berramou A .(1983). Etude sur le lben marocain .**63** :230-245 .

Tantaoui Elaraki A ; Boubkri C et Benkeroun M . Berrada N .(1984).caractérisation physicochimique du lben marocain .le lait ,**64** (643 -644) ,pp 436 -447.

Tantaoui-Elaraki A and El Marrakchi A. (1987). Study of the Moroccan dairy products : Lben and smen. *Mircen J.* **3** : 211–220.

Tourneur C. (1972).Aptitude à la protéolyse des lactobacilles présents dans les fromages et les lactosérum de fromage .lait **52** ,149 -174 .

Tolle A. (1980). The microflora of the udder. *Bull. Int. Dairy Fed.* **120**: 4–10.

V

Vandamme P ; Pot B ; Gillis M ; DeVos P ; Kersters K and Swings J. (1996). Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematic. *Microbial. Rev.* **60**: 407.

Vignola C. (2002).science et technologie du lait ed .presses international polytechnique.

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

Z

Zalan Z ; Barath A and Halasz A . (2005) .Influence of growth medium on hydrogen peroxide Bacteriocine production of lactobacillus strains .Food technol·Biothech , **43** (3) : 219-225.

Zamfir M ; Vancanneyt M ; Makras L ; Vaningelgem F; Lefebvre K ; Pot B ; Swings J and De Vuyst L. (2006). Biodiversity of lactic acid bacteria in Romanian dairy products. *Syst. Appl. Microbiol.* **29**: 487–495.

Annexes

Tableau I : Nombre des échantillons et origine du l'ben collecté :

Wilaya	Région	Nombre d'échantillon
Béjaia	Tizi ,Fénaia ,Oued-Ghir Bolimat ,Amizour ,Adekar , Tichy ,Kendira , PK7(entrée de Tichy),Toudja et Timezrit)	11
Sétif	Tizi N'Bechar, Ras El-ma	02
Tizi Ouzou	Bouzgane	01

Tableau II : Tests d'identification d'*E .coli* :

Test	Description de test	référence
Mannitol- mobilité	<p>Permet de rechercher simultanément la fermentation de mannitol et la mobilité.</p> <p>On a ensemencé les souches étudiées dans le milieu par pique centrale et incubé à 37°C/24h</p> <p>Le virage au jaune du milieu indique la fermentation du mannitol, une diffusion dans la gélose indique la mobilité des bactéries</p>	(Marchal et <i>al.</i> , 1991).
TSI (BIOCHEM :DM 2350)	<p>A l'aide d'une ense, on ensemence la pente puis le culot d'un tube par pique centrale. L'incubation se fait à 37°C/48h à 72h.</p> <p>Une coloration jaune de la pente indique un lactose positif.</p> <p>Une coloration jaune du culot montre un glucose positif. Une coloration jaune de la zone intermédiaire indique un saccharose positif</p> <p>Ce test permet également de mettre en évidence la production de H₂S (noircissement de la zone joignant la pente et le culot) et du gaz (bulles dans la gélose)</p>	(Marchal et <i>al.</i> , 1991).
Citrate de semence	<p>La pente du milieu est ensemencée par pique centrale par une anse de platine, puis incubé à 37°C pendant 5 jours</p> <p>Citrate positif : culture avec alcalinisation du milieu</p> <p>Citrate négatif : pas de culture (coloration verte de milieu inchangée)</p>	(Marchal et <i>al.</i> , 1991).

Tableau I : Résultats d'analyses physico-chimiques de différents échantillons de l'ben

Région	pH	Acidité Dornic (°D)	Taux de MG (g /l)	La densité
Tizi	4,46	61,11	10	1,032
Fénaia	4,59	66,66	9	1,087
Oued-ghir	4,54	67	10	1,028
Bolimat	4 ,35	72	3	1,020
Amizour	4,53	96	15	1,031
Adekar	4,60	81	17	1,033
Tichy	4,40	105	3	1,022
Kendira	4,38	77	6	1,965
Pk7(Tichy)	4,50	89	6	1,014
Toudja	4,66	69	9	1,019
Timezrit	4,20	70	9	1,019
Tizi N'bechar	4,62	79	16,5	1,025
Ras El-ma	4,52	69	6	1,018
Tizi ouzou	4,29	80	30	1,027

Tableau II : Résultats de dénombrement des flores dans le l'ben :

Flores Régions	FTAM	Levure(L) Moissures(M)		Bactéries Lactiques		Coliformes totaux	staphylocoques	Streptocoques totaux
		L	M	MRS	M17			
Tizi	4×10^9	$5,9 \times 10^4$	$2,8 \times 10^4$	3×10^8	3×10^8	13×10^2		Abs
Fénaia	51×10^7	4×10^7	2×10^3	3×10^8	30×10^8	2×10^3		Abs
Oued- Ghir	24×10^8	4×10^4	7×10^3	1×10^8	10×10^8	11×10^3	1×10^3	66×10^3
Bolimat	11×10^9	3×10^4	14×10^4	20×10^7	15×10^7	11×10^3	53×10^2	4×10^5
Amizour	$20,1 \times 10^{10}$	18×10^5	18×10^5	81×10^8	10×10^8	Abs	2×10^5	Abs
Adekar	$18,5 \times 10^5$	4×10^6	7×10^5	30×10^8	$1,2 \times 10^8$	11×10^3	4×10^4	32×10^3
tichy	30×10^9	26×10^5	23×10^5	28×10^7	30×10^7	2×10^4	57×10^2	Abs
PK7	25×10^{10}	3×10^6	2×10^6	30×10^7	30×10^7	11×10^3	15×10^4	Abs
Kendiria	4×10^{10}	7×10^5	24×10^5	9×10^7	13×10^7	7×10^5	8×10^3	Abs
Toudja	3×10^9	2×10^5	34×10^5	28×10^7	12×10^7	7×10^3	5×10^4	Abs
Timezrit	5×10^{10}	6×10^3	7×10^3	52×10^8	38×10^8	Abs	Abs	Abs
Tizi N'bechar	4×10^8	61×10^3	15×10^3	15×10^7	22×10^7	Abs	Abs	Abs
Ras El- ma	4×10^9	2×10^4	32×10^3	22×10^6	25×10^7	11×10^5	3×10^2	Abs
Tizi Ouzou	4×10^{10}	4×10^3	4×10^2	4×10^7	16×10^7	7×10^5	16×10^3	Abs

Tableau IV : Résultats des recherches de la flore pathogène dans les échantillons du l'ben collectés :

Flore pathogène régions	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	Streptocoques fécaux	CSR	<i>salmonella</i>
Tizi	+	/	/	-	-
Fénaia	+	/	/	-	-
Oued-Ghir	+	+	+	-	-
Bolimat	+	+	+	-	-
Amizour	/	-	/	-	-
Adekar	+	-	+	-	-
Tichy	+	-	/	-	-
PK7	-	+	/	-	-
Kendira	-	-	/	-	-
Toudja	-	-	/	-	-
Timezrit	/	/	/	-	-
Tizi N'bechar	/	/	/	-	-
Ras El-ma	-	+	/	-	-
Tizi Ouzou	+	+	/	-	-

+ :Croissance positive - :Croissance négative / :Non effectué

Tableau I : Tableau de référence caractéristique des genres *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* et *Lactobacillus* : (Axelsson ,2004)

Caractères	Gaz	Croissance à 45°C	Croissance à 6,5% de NaCl	Croissance à pH=4
Genre				
<i>Lactococcus</i>	-	-	-	+ -
<i>Lactobacillus</i>	+ -	+ -	+ -	+ -
<i>Pediococcus</i>	-	+ -	+ -	+
<i>Streptococcus</i>	-	+	-	-
<i>Leuconostoc</i>	+	-	+ -	+ -

+ : Croissance positive - : Croissance négative + - : Croissance faible

Tableau II : caractéristiques physiologiques et biochimiques de quelques espèces du genre *Lactococcus* : (Sellami et al ., (2007) .

espèces	<i>Lc gravieae</i>	<i>Lc piscium</i>	<i>Lc raffinolactis</i>	<i>Lc plantarum</i>	<i>Lc lactis ssp lactis</i>	<i>Lc ssp letis hordniae</i>	<i>Lc lactis ssp cremoris</i>
caractères							
2% NaCl	+	ND	+	+	+	+	+
4% NaCl	+	ND	-	+	+	-	-
6,5% NaCl	-	ND	-	-	-	-	-
45°C	-		-	-	-	-	-
gaz	-		-	-	-	-	-
Ph=4,5	+		-	+	-	-	-
Ph=6,5	-		-	+	+	+	+

+ : Croissance positive - : Croissance négative ND : Non Déterminé

Tableau III : Profil fermentaire de quelques espèces de genre *Lactococcus* :

espèces	Sucres			
	Lactose	Maltose	Mannitol	Saccharose
<i>Lc . gravieae</i>	+	V	V	V
<i>Lc .lactis ssp cremoris</i>	+	-	V	V
<i>Lc. lactis hordniae</i>	-	-	V	+
<i>Lc. lactis ssp lactis</i>	+		V	V
<i>Lc. pescium</i>	+		+	+
<i>Lc .plantarum</i>	-	+	+	+
<i>Lc. raffinolactis</i>	+	+	V	+

+ :Positive - :Négative V : Variable

Tableau IV : tableau de référence des principaux caractéristiques des espèces *lactococcus*. Homofermentaire mesophiles . (deroissart,1986).

Les especes	T°		Nacl%	Thermo resistance	Fermentation des sucres			
	37	45			4	63,5°c	arabinose	glucose
<i>Lc.lactis subsp.lactis</i>	+	-	+	-	-	+	+	-
<i>Lc.lactis.subsp cremoris</i>	+	-	-	-	-	+	+	-

Tableau V: Tableau de référence des principales caractéristiques des espèces *pediococcus* sp homofermentaire thermophiles et mésophiles (de Roissart ,1986).

Especies	T°C		pH		Nacl %		gaz	Sucres
	37	45	4	8,2	4	6,5		xylose
<i>Pc .dextrinicus</i>	+	-	-	-	+	-	-	-
<i>Pc .acidilactici</i>	+	-	+	-	+	+	-	+
<i>Pc . halophilus</i>	+	+	-	+	+	+	-	-
<i>Pc .urinaequi</i>	+	-	-	+	+	+	-	-

Tableau VI: Tableau de référence des principales caractéristiques des espèces *leuconostocs* thermophiles et mésophiles : (de Roissart ,1986)

Les especies	T°C		gaz	Fermentation des sucres	
	37	45		arabinose	mannitol
<i>Ln .mesenteriodes</i> subsp <i>mesenteriodes</i>	+	-	+	+	+
<i>Ln .mesenteriodes</i> subsp <i>dextranicum</i>	+	-	+	-	-
<i>Ln .mesenteriodes</i> subsp <i>cremoris</i>	-	-	+	-	-
<i>Ln .paramesenteriodes</i>	+	-	+	+	-
<i>Ln . lactis</i>	+	-	+	-	-
<i>Ln . oenos</i>	-	+	+	+	-

Tableau VII : Tableau de référence des principaux caractéristiques des lactobacilles (bacille) homofermentaires thermophiles et mésophiles (Badis et al , 2005)

Les espèces	Croissance à 45°C	gaz	pH		NaCl%	
			4,5	6,5	2	4
<i>Lb. helveticus</i>	+	-	+	-	-	-
<i>Lb. bulgaricus</i>	+	-	+	+	-	-
<i>Lb. rhamnosus</i>	+	-	+	+	+	+
<i>Lb. lactis</i>	+	-	+	+	+	-
<i>Lb. animalis</i>	+	-	+	+	+	-
<i>Lb. plantarum</i>	-	-	+	+	+	+
<i>Lb .casei subsp alactosus</i>	-	-	+	+	-	-
<i>Lb.amymophilus</i>	-	-	+-	+	+-	+

Remarque : pour tous les tableaux :

+ : Croissance positive - : Croissance négative +- : Croissance faible / : Non effectué

Tableau I : Caractérisation morphologique des isolats des bactéries lactiques :

Cellules à Gram positif et catalase négatif		
région	Code de la souche/milieu de culture	Aspect/Regroupement des colonies
Tizi	S : 01 MRS	Cocci
	S : 03 MRS	Cocci
	S : 04 MRS	Cocci
Fénaia	S : 01 MRS	Cocci en diplocoque/en chaînette
	S : 02 MRS	Cocci
	S : 03 MRS	cocci
	S : 04 MRS	Cocci en diplocoque/Chaînette
Oud- Ghir	S :01 M17	Cocci en chaînette
	S :02 M17	cocci
	S :03 M17	Cocci en diplocoque/chaînette
	S :04 M17	Cocci en diplocoque/chaînette
	S :05 M17	cocci
	S :01 MRS	Cocci
	S :02 MRS	Cocci en amas
	S :03 MRS	Long bacille
	S :03 MRS	Petit cocci
	S :04 MRS	Cocci
	S :05 MRS	Cocci en chaînette/grappe
	S :06 MRS	Cocci
	S :02 MRS	Cocci en quatre
Bolimat	S :01 MRS	Cocci
	S :02 MRS	Coccobacille
	S :04 MRS	Cocci monocoque/diplocoque/chaînette
	S :01 M17	cocci
Amizour	S :01 M17	Cocci
	S :02 M17	cocci
	S :03 M17	Cocci
	S :04 M17	Cocci
	S :01 MRS	Longue chaînette
	S :02 MRS	Cocci diplocoque/Chaînette
	S :03 MRS	Petit cocci
	S :04 MRS	Petit cocci à Longue chaînette
	S :A MRS	Bacille
	S :B MRS	Bacille
	S :D MRS	Coccobacille
S :C MRS	Bacille	
Adekar	S :01 M17	Cocci dispersé
	S :02 M17	Cocci diplocoque/amassés
	S :03 M17	Cocci individuel/diplocoque
	S :04 M17	Cocci dispersé
	S :01 MRS	Cocci diplocoque/chaînette
	S :02 MRS	Coccobacille diplocoque/amassés

Adekar	S :03 MRS	Bacille
	S :04 MRS	Coccobacille
	S :05 MRS	Coccobacille
	S :06 MRS	Coccobacille en chainette/dispersé
	S :07 MRS	Coccobacille en chainette/dispersé
	S :A	Bacille
	S :B	Coccobacille
	S :C	Cocci en diplocoque
	S :D	Cocci en diplocoque/chainette
	S :E	Cocci
	S :F	Cocci
Tichy	S :01 MRS	Long bacille
	S :02 MRS	Cocci
	S :03 MRS	Coccobacille
	S :04 MRS	Coccobacille
	S :01 M17	Cocci/coccobacille
	S :02 M17	Cocci
	S :01 MRS	Cocobacille
	S :02 MRS	Coccobacille
	S :03 MRS	Long bacille
	S :04 MRS	Long bacille
	S :05 MRS	Bacille
	S :06 MRS	Coccobacille en amas/Chainette
	S :07 MRS	Cocci en chainette
	S :08 MRS	Coccobacille/petit bâtonnet
S :09 MRS	Bacille	
Tizi N'bechar	S :01 M17	Cocci/coccobacille
	S :02 M17	Coccobacille en amas ,Chainette
	S :03 M17	Coccobacille
	S :04 MRS	Coccobacille
	S :01 M17	Coccobacille
	S :03 M17	Cocci
	S :04 M17	Cocci en chainette
	S :05 M17	Cocci
	S :06 MRS	Cocci
	S :07 MRS	Bacille
PK7	S :01 M17	Cocci en diplocoque
	S :02 M17	Bacille
	S :03 M17	Bacille
	S :04 MRS	Coccobacille
	S :05 MRS	Cocci
	S :06 MRS	coccobacille/en chainette
	S :01 MRS	Cocci en amas
	S :02 MRS	Cocci
	S :02 M17	Coccobacille
	S :03 M17	Cocci
Kendira	S :01 MRS	Cocci
	S :02 MRS	Cocci en chainette/amass

kendira	S :03 MRS	Coccobacille/diplocoque
Toudja	S :01 MRS	Cocci
	S :02 MRS	Long bacille
	S :03 MRS	Cocci en diplocoque
	S :04 MRS	Bacille
Ras-Elma	S :01 MRS	Bacille
	S :02 MRS	Cocci
	S :03 M17	Cocci
Timezrit	S :01 M17	Cocci en amas
	S :02 M17	Cocci en amas
	S :03 M17	Cocci en amas
	S :04 M17	Cocci en amas
	S :05 M17	Cocci en amas
Tizi-Ouzou	S :01 MRS	Coccobacille
	S :02 MRS	Coccobacille
	S :03 MRS	Coccobacille
	S :04 MRS	Coccobacille
	S :05 MRS	Coccobacille
	S :06 MRS	Coccobacille
	S :08 MRS	Coccobacille
	S :09 MRS	Coccobacille
S :010 MRS	Coccobacille	

Tableau II : Cocci homofermentaires et hétérofermentaires :

Régions	Souches	Homofermentaire(gaz -)	Nombre
Tizi	S :01MRS	-	38 isolats cocci gaz (-)
	S :03 MRS	-	
	S :04 MRS	-	
Fenaia	S :01MRS	-	
	S :02 MRS	-	
	S :03 MRS	-	
Ouedghir	S:01 M17	-	
	S:03 M17	-	
	S:04 M17	-	
	S:02 MRS	-	
	S:02' MRS	-	
	S:03'' MRS	-	
	S:04 MRS	-	
	S:03' MRS	-	
Bolimate	S:04 MRS	-	
	S:03 MRS	-	
Touja	S:01 MRS	-	
Ras alma	S:02 MRS	-	
Timzrith	S:01 M17	-	
	S:02 M17	-	
	S:05 M17	-	
Amizour	S:01 M17	-	
	S:03 M17	-	
	S:04 M17	-	
	S:02 M17	-	
	S:04 M17	-	
Adekar	S:C M17	-	
	S:F M17	-	
	S:01 MRS	-	
Tichy	S:07 MRS	-	
Tizinbecher	S:01 M17	-	
	S:04 M17	-	
	S:05 M17	-	
	S:06 M17	-	

PK7	S:01 M17 S:02 MRS S:02 MRS S:03 MRS	- - - -	
		Heterofermentaire	
Ouedghir	S:05 M17	+	
Bolimate	S:01 MRS S:01 M17	+ +	10 isolats cocci gaz (+)
Kendira	S:01 MRS	+	
	S: 02 M17		
Adekar	S:03 M17 S:04 M17	+ +	
Tichy	S:02 MRS	+	
PK7	S:05 MRS S:06 MRS	+ +	

Tableau III : Critères d'identification des isolats du groupe lactocoques, streptocoques et pedicoque :

Cocci homofermentaires (gaz -)								
souches	Croissance à 45°c	Thermophile /mésophile	Croissance à 6,5 % Nacl	PH=4	PH=4,5	nombre	Genre	
S :01	-	Mesophiles	-	-	+-	11 isolats	<i>lactococcus</i>	
S :03	-		-	-	-			
S :04	-		-	-	+			
S :02'	-		-	-	+			
S :03'	-		-	-	+			
S :01	-		-	-	-			
S :02	-		-	-	-			
S :02	-		+-	-	-			
S :05	-		-	-	-			
S :06	-		-	-	+			+
S :03	-		-	-	-			-
S :01	+	thermophile	-	-	-	07 isolat	<i>Streptococcus</i>	
S :04	+		-	-	-			
S :04	+		-	-	-			
S :01	+		-	-	-			
S :03	+		-	-	-			
S :F	+		-	-	-			
S :04	+		-	-	-			
S :02	-	mesophiles	+	-	-	01 isolats		

S :01							
S :02							
S :03	+		+	-	-		<i>Pediococcus</i>
S :03	+		+	-	-		
S :02	+		+/-	-	-		
S :04	+		+	-	+		
S :03	+		+	-	-		
S :01	+		+	-	-		
S :02	+	Thermophiles	+	+/-	+	17 isolats	
S :05	+		+	-	-		
S :04	+		+	-	-		
S :04	+		+	-	+		
S :C	+		+	-	-		
S :01	+		+/-	-	-		
S :07	+		+	-	+		
S :01	+		+	-	-		
S :01	+		+/-	-	+/-		
	+		+	-	+		
	+		+	-	-		
S :03''	-	mesophiles	+	+	+	02 isolats	
S :02	-		+	-	-		

Tableau IV : Résultats de test de croissance des lactococcus homofermentaires :

Region	Souches	Temperature		PH		Nacl%		Thermoresistance 63,5°c
		30	37	5,4	8,2	2	4	
Tizi	S :01MRS	+	+	+-	-	-	-	-
	S :03MRS	+	+	+	-	-	-	-
	S :04MRS	+	+	+	-	-	+	+
ouedghir	S :02'MRS	+	+	-	-	+	+	-
	S :03 'MRS	+	+	+	+	+	+	-
Toudja	S :01 MRS	+	+	+	+	+	-	-
	S :01 MRS	+	+	-	-	+-	+-	+-
Ras alma	S :02 MRS	+	+	+	-	+	-	-
Amizour	S :02 MRS	+	+	+-	-	+-	+-	+-
Tizi N'becher	S :05 M17	+	+	+	+	+	+	-
	S :06 M17	+	+	+	-	-	-	-
PK7	S :03 MRS	+	+	-	-	+	+	-
	S :03 MRS	+	+	-	-	+	+	-

Tableau V : Profil fermentaire des lactococcus homofermentaires :

souches	Les sucres									
	Sacchar	malto se	mannit ol	arabino se	xylo se	cellobi ose	levulo se	glyceri ne	gluco se	Lacto se
S :01	+-	+	-	+	+-	+	+	+	+	/
S :03	-	+	-	-	-	+	+	+	+	/
S :04	+	+	+	+	+	+	+	+-	+	/
S :02'	+	+	-	+-	+-	+	+	+-	+	/
S :03'	+	+	+	-	-	+	+	+	+	/
S :01	+-	+	+	+	+	+	+	+-	+	/
S :02	-	+	-	+-	-	+	+	+-	+	/
S :02										
S :05	+-	+	-	+	-	+	+	-	/	+
S :06	+	+	-	-	-	+	+	+	/	+
S :03	-	+	-	-	-	+	+	-	+	/

Tableau VI : Test de croissance des streptocoques homofermentaire thermophiles :

Region	souches thermophile	T°c		PH			Nacl %		Thermoresistance
		30	37	5,4	8,2	6,5	2	4	63,5°c
oueghir	S :01 M17	+	+	+	+ -	+	+	+	+
	S :04 M17	+	+	-	+	+	+	-	+
	S :04 MRS	+	+	+	+	+	+	+	-
Amizour	S :01 M17	+	+	+	+	+	+	-	+ -
	S :03 M17	+	+	+	+	+	+	-	+
Adekar Tizinbecher	S:F M17	+	+	+	+	+	+	-	-
	S:04 M17	+	+	-	+ -	+ -	+	+	+ -
Region	Souches mesophile	30	37	5,4	8,2	6,5	2	4	63,5°c
PK7	S:02 MRS	+	+ -	-	+ -	-	+	+	-

Tableau VIII : Résultats des tests de fermentation des sucres chez les pediococques homofermentaires thermophiles et mésophiles :

souches	Fermentation des sucres									
	Sacch	malt ose	manni tol	arabi nose	xylo se	cello bios e	levulos e	glycer ine	Gluco se	Lacto se
S:01	+	-	-	+-	-	-	-	+	+	/
S:02	-	+	-	-	+-	+	+	+	+	/
S:03	+	+	+	+	+	+	+	+	+	/
S:03	+	+-	+	+-	+	+	+	+-	/	+
S:02	-	+	-	-	+	+	+	-	+	/
S:04	+	+	-	+-	+-	+	+	+-	+	/
S:03	+	+	-	+	-	+	+	+	+	/
S:01	-	+	+-	-	-	-	-	-	/	+
S:02										
S:05										
S:04	+	+-	+-	+-	+-	+-	+	-	/	+
S:04										
S:C	+	+	+	+-	+-	+	+	+-	/	+
S:01	-	+	-	-	-	+	+	-	+	/
S:07	+	+	+	-	+-	+	+	+	+	/
S:01										
S:01	-	-	+-	-	-	+	+	-	/	+
S:02	+	+	-	-	+-	+-	+	+	+	/
S:03''	+	+	+	-	-	+	+	+	+	/

Tableau IX : Tests de croissance des leuconostocs hétérofermentaires thermophiles et mésophiles.

Region	Souches mesophiles	T°c			pH					Nacl %		
		30	37	45	4	4,5	5,4	6,5	8,2	2	4	6,5
ouedghir	S :0 5M17	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+-	+
bolimat	S :01MRS	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	S :01M17	+	+	-	-	-	+-	+-	+	+	-	-
Adekar	S :03M17	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+-	+-
	S :04 M17	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-
Tichy	S :02MRS	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+
PK7	S :05 MRS	+	-	-	-	-	-	+-	+	+	+	+
	S :06 MRS	+	+	-	-	+	+	+-	+	+	+	+
	Thermophiles											
Kendir Adekar	S :01MRS	+	+	+	-	+-	-	+	+	+	+	+
	S :02M17	+	+	+	+	+	+-	+	+	+	+	+

Tableau X : Résultats des tests de fermentation des sucres chez les loconostocs hétérofermentaire thermophiles et mésophiles :

Souches	Fermentation des sucres									
	saccharose	maltose	mannitol	arabinose	xylose	cellobiose	levulose	glycerine	glucose	Lactose
S :05	+/-	+	+/-	+/-	-	+	+	+/-	/	+
S :01	-	+	+	+	-	-	+	+	+	/
S :01	-	+	-	+	-	+	+	-	/	+
S :03	-	+	-	-	-	+	+	-	+	/
S :04	-	+	-	-	-	+	+	-	+	/
S :02	+	+	+	-	-	+	+	-	+	/
S :05	+	-	-	-	+/-	+/-	-	-	+	/
S :06	+	+	-	-	-	-	+	+/-	+	/
S :01	+	+	-	-	+	+	+	+/-	+	/
S :02	-	+	+	-	-	+	+	-	+	/

Tableau XI : Les principaux isolats de forme bacille et coccobacilles :

Regions	souches	forme	nombre	Genre
ouedghir	S :03' MRS	bacille	13 isolats	<i>Lactobacillus</i>
Amizour	S :A MRS S :B MRS	bacille bacille		
Adekar	S :03 MRS	bacille		
Tichy	S :09 MRS	bacille		
Tizinbecher	S :07 MRS	bacille		
touja	S :02 MRS	bacille		
Amizour	S :01 MRS S :C MRS	bacille bacille		
Adekar	S :A M17	bacille		
Tichy	S :01 MRS S :03 MRS S :04 MRS	bacille bacille bacille		
bolimat	S :02 MRS	coccobacille	30 isolats	<i>Lacctobacillus</i>
Amizour	S :D MRS	coccobacille		
Adekar	S :02 MRS S :04 MRS S :05 MRS S :06 MRS S :07 MRS	coccobacille coccobacille coccobacille coccobacille coccobacille		

Tichy	S :03 MRS S :04 MRS S :02 MRS S :02 MRS S :01 MRS	coccobacille coccobacille coccobacille coccobacille coccobacille		
Tizinbecher	S :02 M17 S :03 M17 S :01 M17	coccobacille coccobacille coccobacille		
PK7	S :03 M17 S :04 MRS	coccobacille coccobacille		
Ras alma	S :01 MRS	coccobacille		
TO	S :02 MRS	coccobacille		
Amizour	S :D' MRS	coccobacille		
Tichy	S :06 MRS S :08 MRS	coccobacille coccobacille		
Touja	S :04 MRS	coccobacille		
TO	S :08 MRS S :09 MRS	coccobacille coccobacille		
Adekar	S :B M17	coccobacille		
Tichy	S :04 MRS	coccobacille		
Kendira	S :03 MRS	coccobacille		
PK7	S :06 MRS	coccobacille		
TO	S :01 MRS	coccobacille		
			Totale des isolats :	
			43 isolats	

Tableau XII : Résultats des tests physiologiques et biochimiques des souches de genre *Lactobacillus*(bacilles) :

Region	souches	Croissance à 45°C	Gaz	Thermophiles/mésophile	Nombre
Amizour	S :01 MRS	+	-	thermophiles	06 isolats
	S :C MRS	+	-		
Adekar	S :A M17	+	-		
Tichy	S :01 MRS	+	-		
	S :03 MRS	+	-		
	S :04 MRS	+	-		
Ouedgir	S :03' MRS	-	-	mésophiles	07 isolats
Amizour	S :A MRS	-	-		
	S :B MRS	-	-		
Adekar	S :03 MRS	-	-		
Tichy	S :09 MRS	-	-		
Tizinbecher	S :07 MRS	-	-		
Touja	S :02 MRS	-	-		

Tableau XIII : Résultats de production de gaz par les lactobacilles (coccobacilles) :

regions	souches	gaz	Croissances à 45°C	Thermophile/mésophile	Nombre	
Bolimat	S :02 MRS	-	+	thermophiles	19 isolats	
Amizour	S :D MRS	-	+			
Adekar	S :02 MRS	-	+			
	S :04 MRS	-	+			
	S :05 MRS	-	+			
	S :06 MRS	-	+			
	S :07 MRS	-	+			
Tichy	S :03 MRS	-	+			
	S :04 MRS	-	+			
	S :02 MRS	-	+			
	S :02 MRS	-	+			
	S :01 MRS	-	+			
Tizinbecher	S :02 M17	-	+			
	S :03 M17	-	+			
	S :01 M17	-	+			
PK7	S :03 M17	-	+			
	S :04 MRS	-	+			
Ras alma	S :01 MRS	-	+			mésophiles
TO	S :02 MRS	-	+			
Amizour	S :D'MRS	-	-			
Tichy	S :06 MRS	-	-			
	S :08 MRS	-	-			
Touja	S :04 MRS	-	-			
TO	S :08 MRS	-	-	thermophiles	06 isolats	
	S :09 MRS	-	-			
Adekar	S :B M17	+	+			

Tableau XVI : Résultats de test de fermentation des sucre chez les lactobacilles(coccobacilles) homofermentaire thermophiles :

Souches	Fermentation des sucres									
	sacch	maltose	mannitol	arabinose	xylose	cellobiose	levulose	glycerine	glucose	Lactose
S :02	+-	+	+-	+	-	+	+	+-	+	/
S :D	+	+	+	-	-	+	+	-	+	/
S :02	-	+	+	-	-	+	+	-	+	/
S :04										
S :05	-	+	-	-	-	+	+	-	+	/
S :06	-	+	-	-	-	+	+	-	+	/
S :07	+	+	-	-	-	+	+	-	+	/
S :03	+	+	-	-	-	+	+	-	+	/
S :04	+	-	+	-	+-	+-	+	+	+	/
S:02	+	+-	-	+-	+-	+	+	-	+	/
S:02	+	+	+	-	-	+	+	-	+	/
S:01										
S:02	-	+	+	-	-	+	+	+-	/	+
S:03	+	+	+	+	+	+	+	-	/	+
S:01	-	+	+-	-	-	-	-	-	/	+
S:03	-	+	+	+-	-	+	+	-	/	+
S:04	-	+	-	-	-	+	+	+-	+	/
S:01	+-	-	-	-	-	-	-	+	+	/
S:02	+	+	-	+-	+-	+	+	-	-	/

Tableau XVII : Résultats des tests de croissance des lactobacilles(coccobacille)homofermentaires mésophiles :

souches	T°		Nacl %			pH					Thermorésistance
	30	37	2	4	6,5	4	4,5	5,4	6,5	8,7	63 ,5°c
S :D'	+	+	+	+-	+	+-	+	+	+	+	-
S :06	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
S :08	+	+	+	+	+-	+-	-	+	+	+	-
S :04	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-
S :08	+	+	+	+-	-	-	+-	+	+	-	-
S :09	+-	+	+-	+-	-	-	+	+-	+	+-	-

Tableau XVIII : Résultats des tests de fermentation des sucres chez les lactobacilles (coccobacille) homofermentaires mésophiles :

souche	Fermentation des sucres									
	Saccharose	maltose	mannitol	arabinose	xylose	cellobiose	levulose	glycerine	glucose	Lactose
S :D'	+	+	-	-	-	-	-	-	+	/
S :06	-	+	-	+	-	+	+	-	+	/
S :08	-	+	-	+	-	+	+	-	+	/
S :04	+-	+	+	-	-	-	+	+-	+	/
S :08	+-	+	-	+	+	+	+	-	+	/
S :09	+-	+	-	+	+	+	+	-	+	/

Tableau IXX : Résultats des tests de croissances des lactobacilles (coccobacilles) hétérofermentaires thermophiles :

souches	T°		pH					NaCl %			Thermorésistance 63,5°c
	30	37	4	4,5	5,4	6,5	8,7	2	4	6,5	
S :B	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+-	-
S :04	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-	-
S :03	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+-	-

Tableau XX : Fermentation des sucres chez les lactobacilles (coccobacilles) hétérofermentaires thermophiles :

souches	Fermentation des sucres									
	saccharose	maltose	mannitol	arabinose	xylose	cellobiose	levulose	glycerine	glucose	Lactose
S :B										
S :04	-	+	-	-	-	+	+	-	+	/
S :03	+-	+	-	-	-	+	+	-	+-	/

Tableau XXI : Résultats des tests de croissances des lactobacilles (coccobacilles) hétérofermentaires mésophile

souches	T°		PH					Nacl %			Thermoresistance
	30	37	4	4,5	5,4	6,5	8,7	2	4	6,5	63,5°c
S :06	+	+	-	+	+	+-	+	+	+	+	+
S :01	+	+-	-	-	+-	+-	-	+	+-	+-	+-

Tableau XXII : Fermentation des sucres chez les lactobacilles (coccobacilles)

Hétérofermentaires mésophiles :

souches	Fermentation des sucres									
	saccharose	maltose	mannitol	arabinose	xylose	cellobiose	levulose	glycerine	glucose	Lactose
S :06	+	+	-	-	-	-	+	+-	+	/
S :01	+	+	-	-	+	+	+	+	+	/

Remarque : Pour tous les tableaux :

+ :Croissance positive - :Croissance négative +- :faible croissance / :Non effectué

Composition des milieux de culture et des solutions de titrage :

➤ Milieux de cultures :

MRS agar (de Lan Rogossa et Sharpe, 1960)	
Extrait de levure.....	.05g
Extrait de viande05g
Peptone10g
Acétate de sodium05g
Citrate de sodium02g
Glucose20g
KH ₂ PO ₄02g
MgSO ₄0,1 g
MnSO ₄0,05g
Agar12g
Tween8001ml
Eau distillée1000ml
pH=6,5 ± 0,2	
Autoclave : 120°C / 15mn	

Milieu M17 agar	
Extrait de levure	2,5g
Extrait de viande05g
Peptone de caséine	2,5g
Peptone de viande	2,5g
Peptone de soja05g
Acide ascorbique0,5g
B-glycérophosphate de sodium19g
Sulfat de magnesium0,25g
Agar12,75g
Eau distillé1000ml
PH=7,1 ± 0,2	

Gélose PCA (Plate Count Agar)

Tryptone	05g
Extrait de levure	2,5g
Glucose	10g
Agar	15g
Eau distillé	1000g
PH =7	

Milieu chapman

Peptone	10g
Extrait de viande de bœuf	01g
Chlorure de sodium	75g
Mannitol	10g
rouge de phénol	0,025g
Agar eau distillé	1000ml
eau distillé	15g
PH = 7,4	

Milieu SS (Salmonelle ,Shigel)	
Extrait de viande de bœuf	05g
Bio-polytone	05g
Sel biliaire	8,5g
Lactose	10g
Citrate de sodium	8,5g
Thiosulfate de sodium	8,5g
Citrate ferrique	01g
Vert brillant	0,330g
Rouge neutre	0,025g
Agar	13,5g
Eau distillé	1000ml
PH =7,0	

Milieu EMB	
Peptone.....	10g
Lactose	10g
Phosphate dipotassique.....	2g
Eosine.....	0,4g
Bleu de méthélène.....	65mg
Agar	15g
Eau distillée.....	1000 ml
pH=7,1	

Giolitti Cantonni	
Peptone	20g
Extrait de viande.....	5g
Extrait de levure.....	5g
Chlorure de lithium.....	5g
Mannitol.....	20g
Chlorure de sodium.....	5g
Glycine.....	1,2g
Pyruvate de sodium.....	3g
Eau distillée.....	1000ml

Gélose VF	
Peptone.....	20g
Extrait de viande de foie.....	10g
Glucose.....	10g
Amidon.....	50g
Agar.....	15 g
Eau distillée.....	1000ml
pH=7,6±0,1	

➤ Solutions de titrage :

Solution NaoH	
Eau distillé.....	1000ml
NaoH.....	40g

Solution Hcl à 1N	
Eau distillé.....	100ml
Hcl.....	4ml

Eau physiologique peptone	
Peptone.....	1g
Chlorure de sodium.....	8g
Eau distillé.....	1000ml

Phénolphtaléine a 1%	
Phénolphtaléine.....	1g
Alcool 95°C.....	100 ml

Résumé :

14 échantillon de l'ben traditionnel prélevés dans certaine régions des trois wilayas (Béjaia, Sétif et Tizi Ouzou) .La totalité des échantillons ont été soumise à la détermination du pH, de l'acidité Dornic, de taux de matière grasse de la densité et à une analyse microbiologique.

Les résultats étaient variables selon les différentes régions, le procédé suivi durant la fabrication du l'ben et la pratique des règles d'hygiènes.

116 isolats de bactéries lactiques ont étaient isolées sur milieu MRS et M17 et à des températures d'incubation de 30°C et 37°C. Parmi ces 116 isolats,91 ont étaient retenues pour l'identification, les souches ont pu être identifiées au genres *Lactococcus*(04 espèces),*Streptococcus*(02 espèces),*Pediococcus*(02 espèces),*Leuconostoc*(02 espèces) et *Lactobacillus*(08espèces).

Mots clés : l'ben traditionnel, qualité physico-chimique, qualité microbiologique, isolement, identification, bacteries lactiques.

Abstract :

14 samples of traditional fermented milk ,taken from(Bejaia,Setif,and Tizi Ouzou). in al the samples,pH,titrable acidity,fat,densite,and microbiological have been analysed.

The results varied widely between the different area and the process of fabrication.

116 strains of lactic bacteria have been isolated on the circle M17,MRS at temperature of incubation of 30°C and 37°C.91 strains could be identified to genera:Lactococcus(04 strains),Streptococcus(02 strains),Pediococcus(02 strains),Leuconostoc(06 strains),Lactococcus(06 strains)

Key words: (milk fermented),physico-chimical quality,microbiological quality ,isolation,identification,acid lactic bacteria