

République algérienne démocratique et populaire  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

UNIVERSITE ABBES LAGROUR KHENCHELA

Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de biologie moléculaire et cellulaire



Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master  
Filière : Science Biologique  
OPTION : Microbiologie Appliquée

ARROUF SOUMIA

**FROMAGE TRADITIONNEL *KLILA* :  
CARACTERISATION PARTIELLE DE LA FLORE  
LACTIQUE ET DE SON ACTIVITE ANTIFONGIQUE**

Devant le jury :

Président	: THABET Rachid	M.A.A	Univ.Abbes Laghour- Khenchela
Promotrice	: Dr MERABTI Ryma	M.C.B	Univ.Abbes Laghour- Khenchela
Examinatrice	: KHEDDOUMA Asma	M.A.A	Univ.Abbes Laghour- Khenchela
Invitée	: LEULMI Nassima	M.A.A	Univ.Abbes Laghour- Khenchela

2016-2017

# Remerciements

*Avant toutes choses, je tiens à remercier Allah, le Tout Puissant et le Miséricordieux, de m'avoir donné la santé, la volonté et la patience pour mener à terme ma formation de master.*

*Pour commencer, je veux adresser mes remerciements à mon directrice de mémoire, Dr. MERABTI ryma. Je vous remercie pour vos conseils votre soutien, pour sa grande disponibilité et ses encouragements tout au long de la rédaction de ce mémoire. Je suis vraiment chanceuse de vous avoir comme promotrice, je vous remercie vivement pour toutes les heures et les mois que vous avez passés avec patience extrême à me diriger et corriger ce modeste travail. Malgré vos multiples occupations, vous étiez toujours disponible. Veuillez trouver ici toutes mes expressions de profonde gratitude et mes sentiments de respect cher encadrante. Je vous serai reconnaissante pour le reste de ma vie. Que Dieu vous récompense.*

*Mes vifs remerciements vont aux membres du jury pour avoir accepté de juger ce travail :*

*Je tiens à exprimer ma très grande considération, et mon profond respect à Mr THABET Rachid Qui m'a fait l'honneur de présider ce Jury. Je le remercie profondément.*

*Je remercie vivement Mm KHADOUMA Asma d'avoir eu l'amabilité de bien vouloir examiner ce travail.*

*Je la remercie également pour l'honneur qu'elle me fait en participant au jury.*

*Je remercie également Mm LEULMI Nassima d'avoir accepté notre invitation et participé au jury de ce travail malgré ses occupations multiples. Merci beaucoup madame*

*Mes remerciements vont également à ma famille, ma mère et mon père ainsi que mes frères et mes sœurs qui m'ont toujours soutenue et encouragée à poursuivre dans cette voie.*

*Surtout mes 2 frère Walid et Adel*

*Qui mon aidées pendant la réalisation de ce modeste travail*

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

*J'adresse également, mes remerciements à l'équipe du laboratoire de recherches scientifiques de l'université de Khenchela pour leurs orientations et leurs aides, en particulier Mm Sara MEZANE.*

*Au terme de la réalisation de ce travail, il m'est difficile d'établir la liste des personnes à remercier ... Remercier individuellement, c'est prendre un risque, le risque d'oublier, oublier les petites mains qui m'ont aidée un jour, oublier les personnes qui m'ont rendu service, oublier les personnes qui m'ont donné conseil ...*

*Et ce risque, je ne veux pas le prendre*

*Enfin je remercie toute personne ayant participé d'une manière ou d'une autre à la réalisation de ce modeste travail.*

# *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail*

*Aux deux êtres les plus chers au monde qui ont souffert nuit  
et jour Pour nous couvrir de leur amour : mes parents.*

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

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

*A mon promotrice, Doctorant MERABTI Ryma, que je respecte beaucoup.*

*A mes très chers frères*

*A mes très chères sœurs*

*A Tous ma famille et mes proches*

*A Mes amis*

*A Mes camarades de promotion*

*A tous ceux que je porte dans mon cœur.*

*Enfin, A tous ce qui ont de près ou de loin prêté main forte pour*

*Réussir ce modeste travail.*

**SOUMIA**

## TABLE DES MATIERES

Liste des abréviations.....	I
Liste des figures.....	III
Liste des tableaux.....	IV
Introduction .....	1

### PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

#### Chapitre I : les bactéries lactique

1. Généralités sur les bactéries lactiques .....	2
2. Habitat .....	2
3. Caractéristiques principales des bactéries lactiques.....	2
4. Classification des bactéries lactiques.....	3
4.1 Les principaux genres des bactéries lactiques.....	4
5. Génétique des bactéries lactiques.....	7
6. Exigences nutritionnelles.....	7
7. Métabolismes des bactéries lactiques.....	8
7.1 Définition du métabolisme.....	8
7.2 Enzymes et métabolisme.....	8
7.3 Voies du catabolisme des sucres.....	9
8. Intérêt des bactéries lactiques.....	11
8.1 Dans l'industrie alimentaire.....	11
8.2 Dans le domaine thérapeutique.....	11

#### Chapitre II : Produit laitier algériens

1. Historique.....	12
2. Généralités sur l'industrie laitière algérienne.....	12
3. Classification des produits fermentés.....	12
3.1 Lait fermenté.....	13
3.1.1 L'ben.....	13

3.1.2 Rayeb .....	13
3.2 Yaourt.....	14
3.3 Fromage.....	14
3.3.1 <i>Bouhazza</i> .....	15
3.3.2 <i>Jben</i> .....	16
3.3.3 <i>Laghounane</i> .....	16
3.3.4 <i>Takammarat</i> .....	16
3.3.5 <i>Aoules</i> .....	16
3.3.6 <i>Lebaa</i> .....	17
3.3.7 <i>Madghissa</i> .....	17
3.3.8 <i>Méchouna</i> .....	17
3.3.9 <i>Klila</i> .....	17
3.4 <i>Beurre</i> .....	18
4. Composition de certains produits laitiers traditionnels.....	19
4.1 Composition chimique.....	19
4.2 Composition microbiologique.....	19

### **Chapitre III : Propriétés technologiques des bactéries lactiques**

Introduction.....	20
1. Activité antimicrobienne des bactéries lactique.....	20
1.1 Acides organiques.....	20
1.2 Le peroxyde d'hydrogène.....	20
1.3 Le dioxyde de carbone.....	21
1.4 Les composants aromatiques.....	21
1.4.1 La reutéline.....	21
1.4.2 Le diacétyl.....	22
1.5 Bactériocines.....	22
2. Activité acidifiante.....	22
3. Activité protéolytique.....	23

4. Aptitude aromatisant.....	23
5. Production des exopolysaccharides.....	24

## **PARTIE EXPERIMENTALE**

### **Matériel et méthodes**

1. Enquête.....	25
1.1 Objectif.....	25
1.2 Matériel.....	25
1.3 Lieu et période de l’investigation.....	25
2. Echantillonnage.....	26
3. Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM).....	26
4. Isolement et identification des bactéries lactiques.....	27
4.1 Isolement et dénombrement des bactéries lactiques.....	27
4.2 Purification des bactéries lactiques.....	27
4.3 Conservation des souches.....	27
4.4 Identification des bactéries lactiques.....	27
4.4.1 Tests morphologiques.....	27
4.4.1.1 Examen macroscopique.....	27
4.4.1.2 Examen microscopique.....	28
1. Etat frais.....	28
2. Coloration de Gram.....	28
4.4.2 Tests biochimiques.....	28
4.4.2.1 Test de la catalase.....	28
4.4.2.2 Type fermentaire.....	28
4.4.2.3 Thermo résistance.....	29
4.4.2.4 Croissance en présence de différentes concentrations de NaCl.....	29
4.4.2.5 Croissance à différents pH.....	29
4.4.2.6 Mannitol-mobilité.....	29
5. Mise en évidence de l’activité antifongique.....	30

## Résultats et discussion

1. Résultats de l'enquête.....	31
1.1 Caractéristiques des personnes interviewées.....	31
1.2 Délimitation de la zone géographique de la fabrication du fromage <i>Klila</i> .....	31
1.3 Procédé de fabrication.....	33
2. Dénombrement de la FTAM et de la flore lactique.....	35
3. Identification macroscopique et microscopique des isolats.....	36
4. Identification partielle des isolats sélectionnés.....	39
5. L'activité antifongique.....	40
Conclusion et perspectives.....	42
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>43</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>57</b>
<b>RESUMES.....</b>	<b>62</b>

## LISTE DES ABREVIATIONS

<b>%</b>	: Pourcent
<b>°C</b>	: Degré Celsius
<b>µl</b>	: Microlitre
<b>ADN</b>	: Acide désoxyribonucléique
<b>ARN</b>	: Acide ribonucléique
<b>ATP</b>	: Adénosine triphosphate
<b>BL</b>	: Bactérie lactique
<b>C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub></b>	: diacétyl
<b>C<sub>6</sub> H<sub>12</sub> O<sub>6</sub></b>	: Glucose
<b>CO<sub>2</sub></b>	: Dioxyde de carbone
<b><i>E</i></b>	: <i>Enterococcus</i>
<b>EPS</b>	: Exopolysaccharide
<b>FTAM</b>	: Flore totale aérobie mésophile
<b>g</b>	: Gramme
<b>h</b>	: Heure
<b>H<sub>2</sub>O</b>	: L'eau
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: L'eau oxygénée
<b>j</b>	: Jours
<b><i>Lb</i></b>	: <i>Lactobacillus</i>
<b><i>Lc</i></b>	: <i>Lactococcus</i>
<b><i>Leu</i></b>	: <i>Leuconostoc</i>
<b>Min</b>	: Minute
<b>ml</b>	: Millilitre
<b>MRS</b>	: Man Rogosa Sharpe
<b>NaCl</b>	: Chlorure de sodium
<b>NAD</b>	: Nicotinamide adénine dinucléotide
<b>ND</b>	: Non déterminée
<b>OMS</b>	: Organisation mondiale de la santé
<b>P</b>	: Phosphate

<b>PCA</b>	: Plat Count Agar
<b>PEP</b>	: phosphoenolpyruvate
<b>pH</b>	: Potentielle d'hydrogène
<b>PTS</b>	: système phosphotransférase
<b>sp</b>	: espèce non précisée
<b>UFC</b>	: Unités Formant colonie
<b>WFH</b>	: Wheat flour hydrolysate agar

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1 :</b> Arbre phylogénétique des bactéries lactiques (Salminen <i>et al.</i> , 2004).....	4
<b>Figure 2 :</b> Transport et catabolisme du glucose par les bactéries lactiques (De Roissart and Luquet, 1994).....	10
<b>Figure 3 :</b> Schéma des méthodes de fabrication des principaux produits laitiers traditionnelles en Algérie (Lhsaoui, 2009).....	15
<b>Figure 4 :</b> Photo de Fromage <i>Bouhezza</i> (Aissaoui Zitoun and Zidoune, 2006).....	15
<b>Figure 5 :</b> Diagramme de fabrication du fromage traditionnel <i>Klila</i> (Leksir and Chemmam, 2015).....	18
<b>Figure 6 :</b> Les 4 échantillons de <i>Klila</i> .....	26
<b>Figure 7 :</b> Effectifs des personnes questionnées dans les deux wilayas.....	31
<b>Figure 8 :</b> Répartition des enquêtés par zones urbaines et rurales.....	32
<b>Figure 9 :</b> Répartition des enquêtés selon la connaissance ou non de la pratique de <i>Klila</i> .....	32
<b>Figure 10 :</b> Type de lait utilisé en fabrication.....	33
<b>Figure 11 :</b> Diagramme de fabrication de la <i>Klila</i> .....	34
<b>Figure 12 :</b> Caractéristiques microscopiques et macroscopiques des isolats bactériens (A) aspect et couleur des colonies sur milieu M17agar, (B) aspect des cultures en bouillon MRS, (C) Coques à Gram + Gr x 100, (D) bacille à Gram + Gr x100.....	36
<b>Figure 13 :</b> Antagonisme vis à vis d' <i>Aspergillus flavis</i> .....	41
<b>Figure 14 :</b> Antagonisme vis à vis <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> .....	41

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1:</b> Différentes caractéristiques des BL (Axelsson, 2005).....	5
<b>Tableau 2:</b> Les différents genres de bactéries lactiques d'intérêt en microbiologie des aliments et leurs principales caractéristiques (Federighi M, 2005 ; Surta et Federighi, 1998).....	6
<b>Tableau 3 :</b> Valeurs moyennes des paramètres chimiques (g/100g) des principaux produits laitiers traditionnels en Algérie (Boubekri <i>et al</i> , 1986 ; Boubekri and Ohta, 1996).....	19
<b>Tableau 4 :</b> Principaux microorganismes caractéristiques de quelques produits laitiers fermentés en Algérie et produits similaire (Harrati, 1974 ; Boubekri and Ohta1996).....	19
<b>Tableau 5 :</b> les souches fongiques testées et leurs références.....	30
<b>Tableau 6 :</b> Dénombrement exprimées en UFC/g .....	35
<b>Tableau 7 :</b> Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des 33 bactéries lactiques isolées.....	37
<b>Tableau 8 :</b> Caractérisation biochimique des 10 isolats.....	39
<b>Tableau 9:</b> Identification partielle des 10 isolats.....	39
<b>Tableau 10 :</b> Activité antifongiques des 10 isolats.....	40

# *INTRODUCTION*

De nos jours, la fermentation lactique est une activité grandissante tant industrielle qu'artisanale. Nombreux microorganismes contribuent à la fabrication des produits laitiers fermentés mais les bactéries lactiques (BL) homofermentaires composent généralement les ferments les plus utilisés pour transformer le lactose en acide lactique (**Johnson and Steele, 2001**).

Les bactéries lactiques occupent des niches écologiques extrêmement variées. Leur capacité à fermenter les hydrates de carbone et de dégrader les protéines et les lipides mène à la synthèse d'une large gamme de composés, tels que les acides organiques, les peptides, les composés antimicrobiens et aromatiques et les exopolysaccharides (**Mozzi et al., 2010 ; Ross et al., 2002**). L'utilisation des bactéries lactiques permet d'inhiber la prolifération des microorganismes pathogènes et ainsi d'assurer une bonne conservation des aliments et de limiter l'altération des produits alimentaires (**Ross et al., 2002**).

Différents fromages traditionnels existent, depuis l'antiquité, dans les pays méditerranéens. En Algérie, au moins dix types de fromages traditionnels de différentes régions du pays sont actuellement recensés. Les plus connus sont seulement ceux portant les dénominations *Djben* et *Klila*, probablement très répandus et utilisés dans l'ensemble des pays du Maghreb (**Aissaoui, 2014**). En Algérie, la *Klila* est le fromage traditionnel très populaire en raison de ses agréables propriétés organoleptiques et nutritionnelles. Sa méthode traditionnelle de fabrication est encore d'usage. Afin de caractériser la flore lactique du fromage *Klila*, et d'étudier son antagonisme nous avons ciblé, dans ce travail, les objectifs suivants :

- Enquête sur les conditions de fabrication de la *Klila* ;
- Isolement des BL à partir d'échantillons de *Klila* fabriqués localement ;
- Caractérisation partielle des isolats ;
- Mise en évidence de l'activité antifongique des isolats sélectionnés.

*CHAPITRE I : LES BACTERIES  
LACTIQUES*

**1. Généralités sur les bactéries lactiques**

Les bactéries lactiques sont des coques ou des bâtonnets, Gram positif, immobiles, catalase négative et non sporulées. Elles synthétisent leur ATP grâce à la fermentation lactique des glucides. Ces bactéries ont la capacité de fermenter les sucres (glucose, fructose, mannose, galactose, saccharose et lactose) en acide lactique (**Kandler and Weiss, 1986**). Elles sont dites homofermentaires lorsque l'acide lactique est le seul produit formé; par contre elles sont hétérofermentaires lorsque d'autres composés constitués principalement d'acide acétique, d'éthanol et de gaz carbonique sont produits en même temps. Les BL sont aéro-anaérobies facultatives ou micro-aérophiles (**Larpent, 1989 ; Novel, 1993**). Les BL regroupent un ensemble d'espèces hétérogènes dont le trait commun est la production d'acide lactique. Elles appartiennent à divers genres comme *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Aerococcus*, *Alloicoccus* et *Carnobacterium*. Elles interviennent dans l'industrie laitière et dans la fermentation de nombreux autres produits alimentaires. Elles contribuent à la texture, à la saveur des aliments et à la production de composés aromatiques (**Callewaert and Vuyst, 2000**). Ils fermentent les glucides en acide lactique d'où une diminution du pH favorable à la bio conservation des denrées alimentaires (**Carmen et al., 2000**).

**2. Habitat**

Les BL sont ubiquistes, on les trouve généralement dans différentes niches écologiques comme les produits laitiers, les végétaux, la viande, divers produits alimentaires et dans le tractus digestif (**Douault and Corthier, 2000**).

Les BL peuvent vivre en symbiose entre elles et avec un hôte. Comme exemple le tractus gastro-intestinal des mammifères est colonisé par des espèces des genres *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, et *Weisseilla*. Par ailleurs, l'appareil génital des femmes contient des *Lactobacillus*, auxquelles il apporte des nutriments comme le glycogène (**Pirota et al., 2004 ; Falagas et al., 2006**).

**3. Caractéristiques principales des bactéries lactiques**

Les BL sont des cellules vivantes, procaryotes, les BL sont généralement Gram positives, immobiles, non sporulées, anaérobies mais aéro-tolérantes, et ne possédant pas de catalase, de nitrate réductase, et de cytochrome oxydase. Elles ont des exigences nutritionnelles nombreuses (acides aminés, peptides, sels, acides gras et glucides) (**Holzappel et al., 2001 ;**

**Gevers, 2002)** Toutes les bactéries lactiques ont un métabolisme fermentaire strictement saccharolytique qui, en utilisant les glucides, elles peuvent produire soit de :

- L'acide lactique exclusivement (bactéries homolactiques strictes) ;
- L'acide lactique et de l'acide acétique (bactéries hétérolactiques facultatives) ;
- L'acide lactique, de l'acide acétique ou de l'éthanol et de CO<sub>2</sub> (bactéries hétérolactiques strictes) (**Vandamme *et al.*, 1996**). Certaines espèces ou certaines souches peuvent en outre produire de l'acide formique ou de l'acide succinique.

#### 4. Classification des bactéries lactiques

La première classification des BL a été établie en 1919 par Orla Jensen. Elle est basée sur les caractéristiques observables telles que les propriétés morphologiques, biochimiques et physiologiques. Les marqueurs chimiotaxonomiques, comme la composition des acides gras et les constituants de la membrane cellulaire, ont été également utilisés pour la classification (**Krieg, 2001**).

Les nouveaux outils pour l'identification et la classification des bactéries lactiques remettent couramment et/ou complètent les méthodologies traditionnelles basées sur les phénotypes. La classification s'appuie sur des données moléculaires comme la comparaison des séquences codant pour les ARN16S ribosomiques, ...

D'après **Ludwig *et al.*, (2008)**, le phylum *Firmicutes* comprend trois classes : *Bacilli*, *Clostridia* et *Erysipelotrichi*. Appartenant à la classe *Bacilli*, les bactéries lactiques sont divisées en trois familles :

- Famille des *Lactobacillaceae* comportant les *Lactobacillus*, *Paralactobacillus* et *Pediococcus*.
- Famille des *Leuconostocaceae* contenant les *Leuconostoc*, *Oenococcus* et *Weissella*.
- Famille des *Streptococcaceae* comprenant les *Streptococcus*, *Lactococcus* et *Lactovum*.

Les révisions taxonomiques des bactéries lactiques montrent que ces dernières peuvent comprendre environ une quarantaine de genres. Les révisions récentes de la taxonomie des bactéries lactiques sont présentées dans le manuel de **Bergey Trust (2008)**.

#### 4.1 Les principaux genres des bactéries lactiques

Actuellement, les BL regroupent onze genres bactéries différents : *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *vagococcus* et *Bifidobacterium* (Stiles and Holzapfel, 1997)

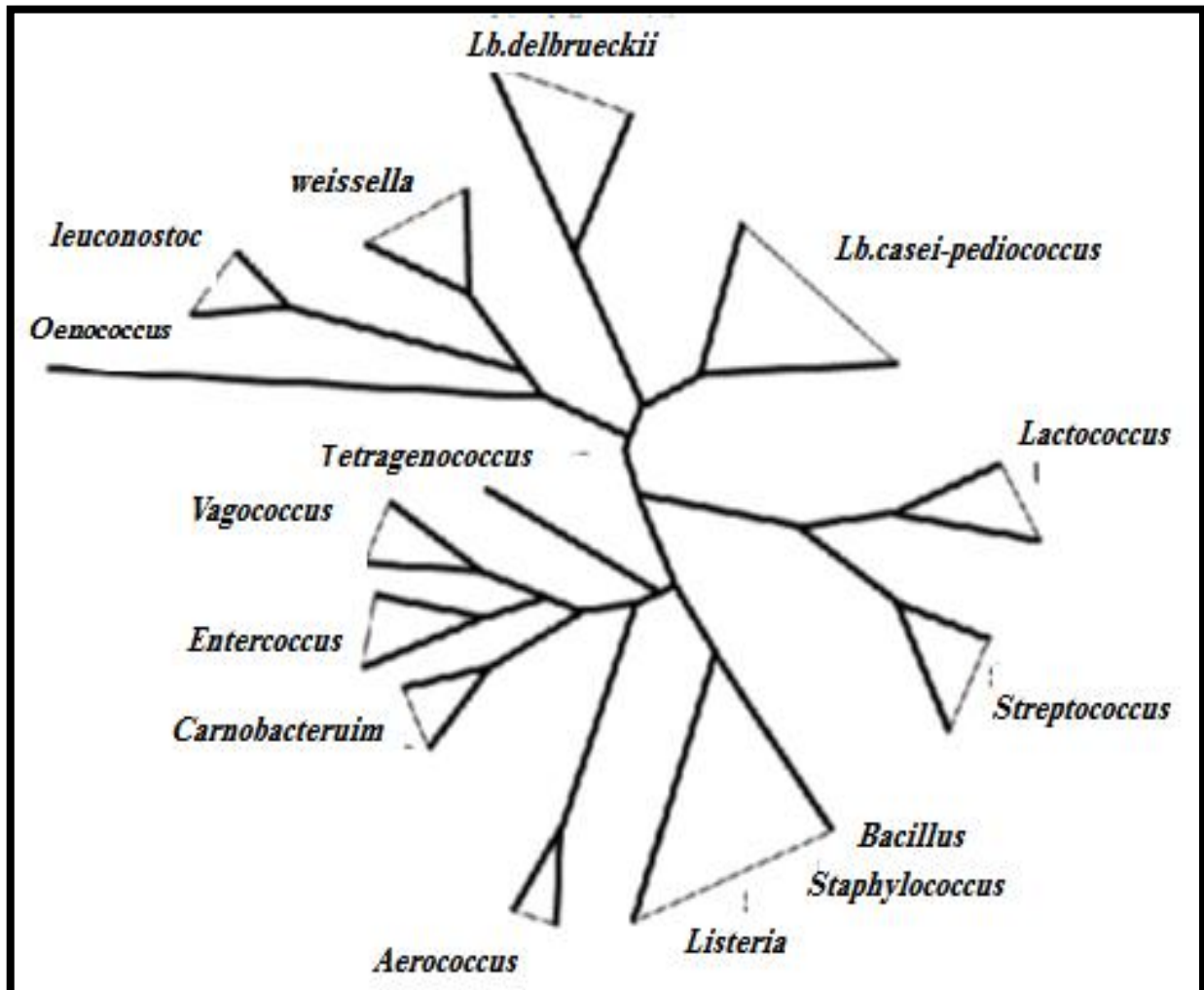


Figure 1 : Schéma d'un arbre phylogénétique des bactéries lactiques (Salminen *et al.*, 2004).

Tableau 1: Différentes caractéristiques des BL (Axelsson, 2005).

Caractéristiques	Batonnets		coques							
	<i>Canob.</i>	<i>Lactob.</i>	<i>Aeroc.</i>	<i>Enteroc.</i>	<i>Lactoc.</i> <i>Vagoc.</i>	<i>Leucon.</i> <i>Oenoc.</i>	<i>Pedioc.</i>	<i>Streptoc.</i>	<i>Tetragenoc.</i>	<i>Weissella</i> <sup>a</sup>
Formation de tétrade	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-
CO <sub>2</sub> <sup>b</sup>	- <sup>c</sup>	±	-	-	+	+	-	-	-	+
Croissance à 10°C	+	±	+	+	+	+	±	-	+	+
Croissance à 45°C	-	±	-	+	-	-	±	±	-	-
Croissance à 6,5% NaCl	ND <sup>d</sup>	±	+	+	-	±	±	-	+	+
Croissance à 18% NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Croissance à pH 4,4	ND	±	-	+	±	±	+	-	-	+
Croissance à pH 9,6	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-
Acide lactique	L	D, L, DL <sup>f</sup>	L	L	L	D	L, DL <sup>f</sup>	L	L	D, DL <sup>f</sup>

+, positif ; -, négatif; la réponse varie entre les espèces; ND, non déterminé.

<sup>a</sup> Les souches de *Weissella* peuvent avoir la forme de bâtonnets.

<sup>b</sup> Test pour l'homo- ou l'hétérofermentation du glucose: -, homofermentative; +, hétérofermentative.

<sup>c</sup> Petite quantité de CO<sub>2</sub> peut être produite suivant le milieu utilisé.

<sup>d</sup> Aucune croissance à 8% de NaCl n'a été rapportée.

<sup>e</sup> Configuration de l'acide lactique produit à partir du glucose.

<sup>f</sup> La production de D-, L-, ou DL- acide lactique varie entre les espèces.

**Tableau 2** : Les différents genres de bactéries lactiques d'intérêt en microbiologie des aliments et leurs principales caractéristiques (Federighi, 2005 ; Surta and Federighi, 1998).

Genre	Morphologie	Fermentation	Température d'optimisation	Nombre d'espèce	Habitats principaux
<i>Lactobacillus</i>	Bacilles	Homofermentaires ou hétérofermentaire	Thermophiles ou mésophiles	Groupe I : 23 Groupe I : 16 Groupe I : 22	Homme, Produits laitiers, carnés, végétaux...
<i>Carnobacterium</i>	Bacilles	Hétérofermentaire	Psychrotrophes	6	Produits carnés, poissons, produits laitiers
<i>Lactococcus</i>	Coques	Homofermentaire	mésophiles	5	Produit laitiers, végétaux
<i>Streptococcus</i>	Coques	Homofermentaire	Thermophiles ou mésophiles	19	Produit laitiers
<i>Enterococcus</i>	Coques	Homofermentaire	Mésophiles	13	Intestin de l'homme et des animaux, produits laitiers
<i>Vagococcus</i>	Coques mobiles	Homofermentaires	Mésophiles	2	Intestin de l'homme et des animaux, produits laitiers (Boudjema 2008)
<i>Pediococcus</i>	Coques en tétrades	Homofermentaires	Mésophiles	7	Bière, produits végétaux, saucissons
<i>Tetragenococcus</i>	Coques en tétrades	Homofermentaires	Mésophiles	1	Saumures
<i>Leuconostoc</i>	Coque	Hétérofermentaire	Mésophiles	11	Produits végétaux, produits laitiers
<i>Oenococcus</i>	Coque	Hétérofermentaires	Mésophiles	1	Vin
<i>Bifidobacterium</i>	Forme irrégulière	Acide acétique et lactique	Mésophile	25	Intestin de l'homme et des animaux

**5. Génétique des bactéries lactique**

Le matériel génétique des BL est organisé en deux structures : le chromosome, long filament d'ADN très replié sur lui-même, et les plasmides, petit molécules circulaire d'ADN indépendant du chromosome, pouvant se répliquer de façon autonome. Les plasmides peuvent être perdus spontanément par la bactérie dans les conditions des milieux défavorables (température élevée, privation nutritionnelles) ou éliminés par des traitements chimiques. Cette possibilité de perdre spontanément des plasmides explique l'instabilité des propriétés technologiques, due à l'apparition de variantes ayant perdu certain gène et donc certaines fonction métabolique. Ainsi, la perte du plasmide codant pour la protéase de paroi rend les bactéries peu protéolytiques, et entraîne une croissance ralentie des germes et une acidification faible du ferment. (**Desmazeaud *et al.*, 1992**).

D'autre caractères technologiques sont également codés par des gènes portés par des plasmides la capacité à utiliser le lactose, le métabolisme de précurseurs d'arômes, la production de la nisine chez certaine souches, des résistances aux bactériophages (**Stackebrandt and Teuber ,1988 ; Kandler and Weiss, 1986**).

**6. Exigences nutritionnelles**

Les BL ont une faible aptitude biosynthétique et sont en principe, incapables d'assimiler directement les principaux précurseurs de l'environnement terrestre. Elles ont besoin de molécules intermédiaires provenant de la biosynthèse végétale, à savoir : des sucres simples, des acides aminés, des nucléotides, et des acides gras. (**Bourgeois *et al.*, 1996 ; Guiraud, 1998**).

Elles peuvent toutefois tirer profit de molécules plus complexes provenant de la biosynthèse végétale ou animale telles que des polysaccharides, des polypeptides et des lipides, à condition de pouvoir les fractionner en molécules intermédiaires assimilables. Si les BL sont considérées comme un des groupes bactériens les plus exigeants du point de vue nutritionnel, c'est parce qu'elles requièrent non seulement des substrats complexes carbonés, azotés, phosphatés et soufrés, mais aussi des facteurs de croissance comme les vitamines et les cations qui ont un rôle de coenzyme (**Bourgeois *et al.*, 1996 ; Guiraud, 1998**).

**7. Métabolismes des bactéries lactiques****7.1 Définition du métabolisme**

Le métabolisme d'une cellule vivante est l'ensemble des réactions de dégradation (catabolisme) et de synthèse (anabolisme) permettant d'établir un cycle d'échanges avec le milieu environnant pour assurer sa survie, sa croissance et sa reproduction. Les réactions cataboliques sont exergoniques, c'est-à-dire qu'elles libèrent de l'énergie, alors que les réactions anaboliques sont endergoniques c'est-à-dire qu'elles consomment de l'énergie (**Lehninger, 1979**).

Le métabolisme énergétique des BL s'effectue donc par un enchaînement de réactions couplées de déshydrogénation et d'hydrogénation, faisant intervenir un donneur initial qui est généralement un sucre, un accepteur final qui est le plus souvent le pyruvate, et des intermédiaires de transport d'électrons qui sont des coenzymes associés à des déshydrogénases. La biosynthèse (ou anabolisme) est une suite de réactions de polymérisation donnant naissance à de longues chaînes moléculaires linéaires et ramifiées (polynucléotides, polysaccharides, polypeptides, etc.) qu'on appelle macromolécules et qui entrent dans la composition des structures essentielles des cellules bactériennes (appareil nucléaire, paroi, membrane, cytoplasme) (**Lehninger, 1979**).

**7.2 Enzymes et métabolisme**

Les BL sont équipées d'un grand nombre d'enzymes différentes qui peuvent être classées selon les critères suivants :

- Leur localisation dans la bactérie : certaines enzymes sont disposées à la surface des cellules, elles y restent fixées ou diffusent dans le milieu pour y dégrader les grosses molécules incapables de traverser la membrane bactérienne ; tandis que d'autres restent dans le cytoplasme ou elles participent à de nombreuses réactions métaboliques.

-Le type de réaction qu'elles catalysent : 1. oxydoréductases; 2. Transférases; 3. Hydrolases; 4. Lyases ; 5. Isomérases ; 6. Ligases.

-Le substrat qu'elles dégradent: lactase, citratase, protéinases, peptidases, etc. qui fractionnent spécifiquement le lactose, les citrates, les protéines, les peptides, etc (**De Roissart and Luquet, 1994**).

### 7.3 Voies du catabolisme des sucres

Selon l'espèce bactérienne et les conditions de culture, le catabolisme du glucose peut suivre une voie homofermentaire ou une voie hétérofermentaire (Figure 2).

- Les BL homofermentaires transforment une molécule de glucose en deux molécules de lactate par la voie des hexoses-diphosphates (encore appelée la glycolyse d'EMBDEN-MEYERHOFF-PARNAS) et génèrent parallèlement deux molécules d'ATP et du NADH<sub>2</sub> qui est réoxydé en NAD pour assurer la poursuite du processus fermentaire (Figure 2) (**De Roissart and Luquet, 1994**).



- Les BL hétérofermentaires transforment une molécule de glucose par la voie des pentoses-phosphates en une molécule de CO<sub>2</sub> et une molécule d'éthanol ou d'acétate et génèrent parallèlement deux molécules d'ATP et du NADH<sub>2</sub> qui est réoxydé en NAD pour assurer la poursuite du processus fermentaire (**De Roissart and Luquet, 1994**) (Figure 2).



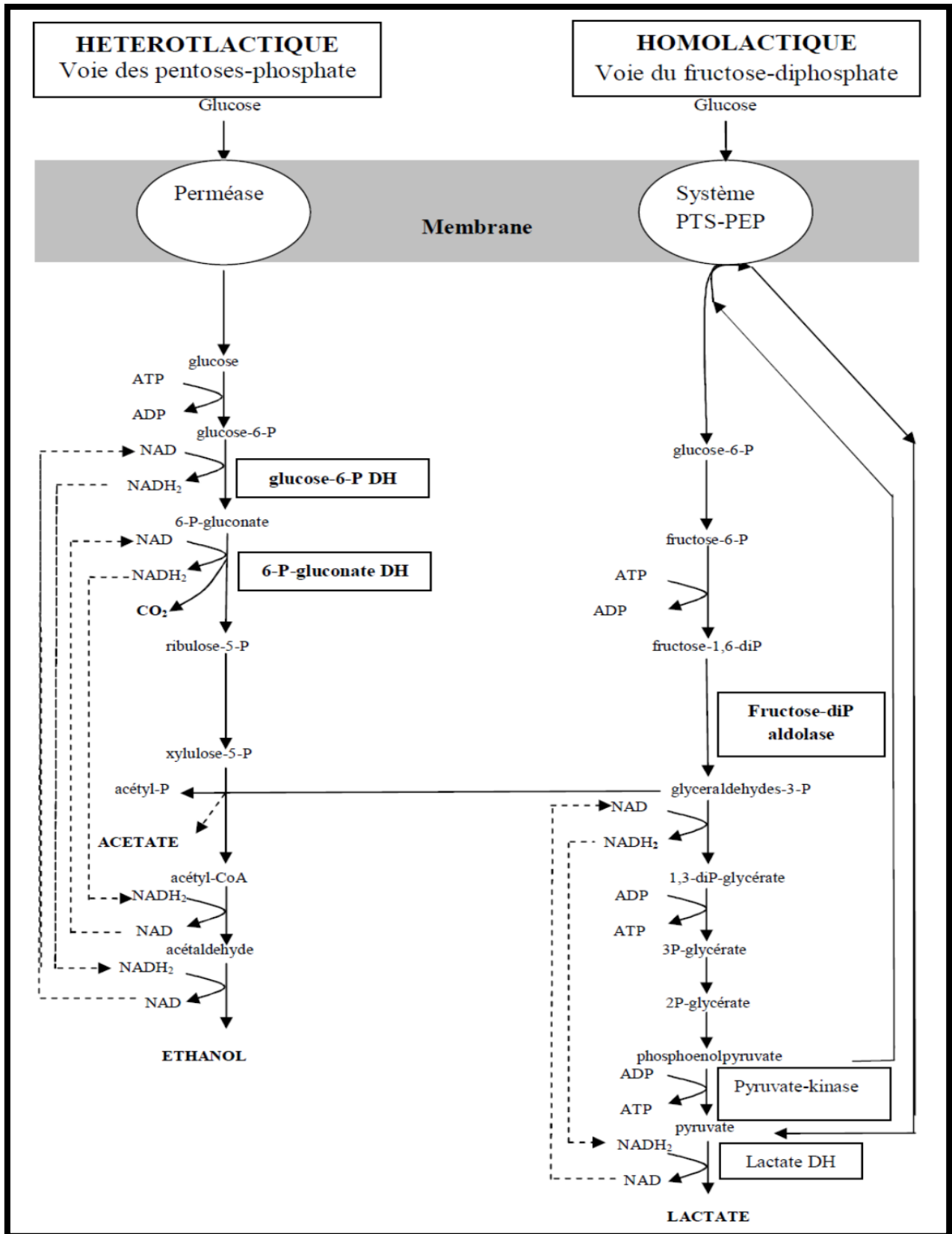


Figure 2 : Transport et catabolisme du glucose par les bactéries lactiques (De Roissart and Luquet, 1994).

**8. Intérêt des bactéries lactiques**

Les BL jouent un rôle important que ce soit dans l'industrie alimentaire ou dans le domaine thérapeutique.

**8.1 Dans l'industrie alimentaire**

Les BL sont impliquées dans la fermentation et la bioconservation de différents aliments. Ainsi, les souches de *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* sont utilisées pour la production du yaourt, des fromages et des laits fermentés (Yateem *et al.*, 2008). Le vin, les poissons, les viandes, les charcuteries, le pain au levain entre autres sont aussi des produits de fermentation par des bactéries lactiques (Badis *et al.*, 2005). L'utilisation de ces dernières a pour but l'amélioration des caractéristiques organoleptiques des produits fermentés et l'augmentation de leur durée de conservation sans l'utilisation de conservateurs chimiques grâce aux substances antimicrobiennes qu'elles secrètent (Dortu and Thonart, 2009). Les souches utilisées en industrie alimentaire doivent répondre à certains critères : absence de pathogénicité ou activité toxique, capacité d'améliorer les caractéristiques organoleptiques, capacité de dominance, facilité de culture et de conservation, et maintenance des propriétés désirables durant le stockage (Marth and Steele, 2001).

**8.2 Dans le domaine thérapeutique**

Les BL apportent des bénéfices à l'hôte en conférant une balance de la microflore intestinale, et en jouant également un rôle important dans la maturation du système immunitaire (Yateem *et al.*, 2008). Différentes études ont démontré le rôle préventif aussi bien que curatif de ces bactéries sur plusieurs types de diarrhées (Mkrtchyan *et al.*, 2010). D'autres ont cité leur capacité de diminuer les allergies liées aux aliments grâce à leur activité protéolytique (El - Ghaish *et al.*, 2011).

Uehara *et al.*, (2006) ont démontré la capacité des souches de *Lactobacillus crispatus*, utilisées sous forme de suppositoires pour empêcher la colonisation du vagin par les bactéries pathogènes et de prévenir ainsi les rechutes chez les femmes qui souffrent d'inflammations fréquentes et répétées de la vessie.

*CHAPITRE II : PRODUITS LAITIERS  
ALGERIENS*

### **1. Historique**

Les pays d'Afrique du Nord ont une tradition ancienne dans la technologie alimentaire, et de nombreux aliments traditionnels ont été transmis d'une génération à l'autre à travers les générations. En Egypte, par exemple, les produits laitiers fermentés et les produits carnés, ainsi que du vin et de la bière, ont été retracés au moins à l'époque Pharaon (**Ross *et al.*, 2002**). Certaines variétés de fromage ont également été suggérées d'avoir été portées à cette région par les Grecs (**Osman, 1987**).

Les pays d'Afrique du Nord (Algérie, Maroc, Tunis, Lybie et Egypte) ont une tradition très riche en technologie alimentaire, et de nombreux aliments traditionnels d'origine animale ou végétale sont encore largement consommés et même très appréciés. En fait, ces aliments jouent un rôle important dans l'économie et la sécurité alimentaire dans ces pays. Pourtant, ils sont encore principalement établis au niveau domestique dans des conditions sanitaires déplorables et commercialisés par des voies informelles. En Algérie, ces aliments restent jusqu'à l'heure actuelle au-delà de tout contrôle officiel sur leur conformité aux normes réglementaires nationales. Par conséquent, leur consommation est prévue de mettre la santé publique en danger par faute de rareté des études scientifiques sur l'incidence des risques dans cette catégorie spécifique d'aliments ; ce qui ajoute à la difficulté de mener une véritable évaluation (**Benkerroum, 2013**).

### **2. Généralités sur l'industrie laitière algérienne**

Le développement du secteur agricole et agroalimentaire constitue un enjeu majeur pour l'Algérie sur le plan économique, politique et social. Le chiffre d'affaires réalisé par l'industrie agroalimentaire représente 40% du total du chiffre d'affaires des industries algériennes hors hydrocarbures (**Kaci and Sassi, 2007**). La consommation des produits laitiers a connu une croissance continue; l'Algérie étant le premier consommateur du lait au sein du grand Maghreb, cette filière est menacée par la conjoncture actuelle : les entreprises évoluent de plus en plus dans des environnements où les avancées technologiques et l'innovation sont des facteurs essentiels pour l'obtention d'avantages concurrentiels (**Amellal, 1995**).

### **3. Classification des produits fermentés**

Les produits laitiers fermentés ont été produits pour prolonger la durée de conservation du lait. Ces aliments traditionnels ont persisté au cours des siècles et ils ont souvent évolué d'un

niveau artisanal et traditionnel à la fabrication à grande échelle industrielle avec production utilisant des cultures spécifiques et équipements modernes (Cogan, 1996). C'est l'augmentation de la production du lait durant certaines saisons et la difficulté de son préservation sous la forme fraîche a conduit au développement des technologies de production traditionnelle (Dharam and Narender, 2007). La consommation des produits laitiers est également associée à des effets bénéfiques sur la santé en plus de leurs valeurs nutritionnelles (Shan-Na *et al.*, 2011). La transformation du lait en produits laitiers traditionnels algériens, tels que *Raib Lben* et *Jben* est réalisée via une fermentation spontanée sans l'ajout d'une entrée sélectionnée (Badis *et al.*, 2004). Les produits laitiers traditionnels algériens importants qui ont la signification commerciale sont : *Lben*, *Klila*, *Bouhezza*, *Jben*, *Rayeb*, *Dhan* et autres.

### 3.1 Lait fermenté

Les laits fermentés sont des produits laitiers transformés par une fermentation essentiellement lactique qui aboutit à l'acidification et à la gélification du lait (Béal and Sodini, 2012). Les laits fermentés algériens sont le *L'ben* et le *Raib*.

#### 3.1.1 *L'ben*

L'origine de ce produit remonte à des temps immémoriaux, probablement à l'époque où l'homme a commencé à domestiquer les espèces laitières et à utiliser leurs laits. Sa fermentation lactique lui donne son arôme naturel et sa saveur inimitable. Sa préparation artisanale est simple, le lait est abandonné à lui-même jusqu'à sa coagulation. Celle-ci se fait à température ambiante et dure 24 à 48 h selon 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* (Ouahghiri, 2009 ; Benkerroum and Tamime, 2004).

#### 3.1.2 *Rayeb*

Le *Rayeb* est un produit qui n'aura aucun traitement thermique préalable et laissé s'acidifier par fermentation spontanée jusqu'à l'obtention d'un caillé (Touati, 1990). Il peut être consommé comme boisson après une simple homogénéisation, ou additionné aux autres plats traditionnels (couscous, mesfouf). Il entre dans la fabrication du *Lben* (Aissaoui, 2006).

**3.2 Yaourt**

Selon la définition publiée par l'OMS en 1977, le yogourt est un lait coagulé à la suite d'une fermentation produisant de l'acide lactique, obtenue à l'aide de *Lactobacillus bulgaricus* et de *Streptococcus thermophilus*, à partir de lait ou de produits laitiers (pasteurisés ou concentrés), additionnés ou non d'autres substances (lait en poudre, poudre de protéines du petit-lait, etc.... Dans le produit fini, les microorganismes doivent se trouver en grand nombre et vivants (**Stäuble et al., 1999**).

On nomme laits fermentés l'ensemble des produits contenant des BL autres que *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*. Ces produits n'ont donc pas le droit de posséder l'appellation (yogourt) sur leur emballage. Les laits fermentés regroupent également les produits ne contenant pas de microorganismes vivants, contrairement au yogourt, où cela est obligatoire (**Jeantet et al., 2008 ; Yildiz, 2010**).

**3.3 Fromage**

La dénomination fromage est réservée au produit fermenté ou non, affiné ou non, obtenu à partir des matériaux suivantes: lait, lait partiellement ou totalement écrémé, crème, matière grasse, babeurre, utilisées seules ou en mélange et coagulées tout ou en partie avant égouttage ou après élimination partielle de la phase aqueuse (**Gillis, 1997**).

Selon **Hellal, (2001)** et **Aissaoui, (2003)**, certains fromages existent en Algérie depuis des siècles et sont encore fabriqués traditionnellement dans les fermes et dans le milieu rural de plusieurs régions du pays.

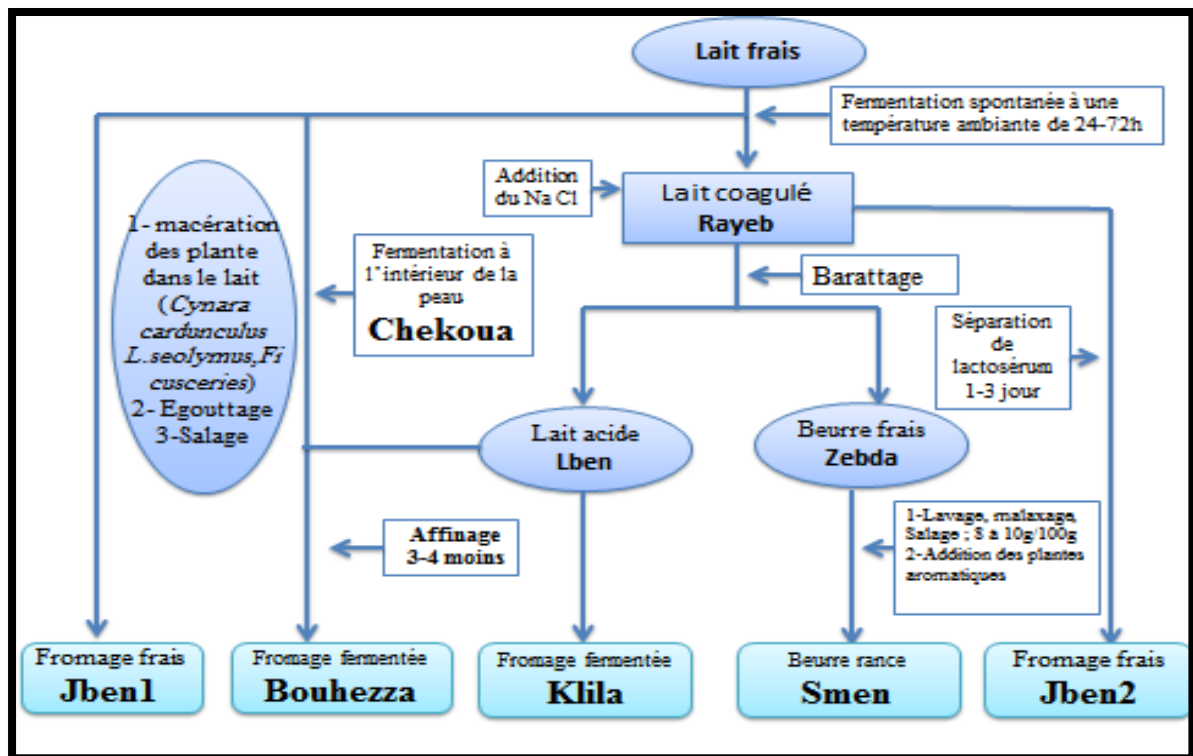


Figure 3 : Schéma des méthodes de fabrication des principaux produits laitiers traditionnels en Algérie (Lhsaoui, 2009).

### 3.3.1 Bouhazza

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



Figure 4 : Fromage traditionnel *Bouhezza* (Aissaoui and Zidoune, 2006).

**3.3.2 Jben**

Le *Jben* est un fromage traditionnel frais obtenu par coagulation enzymatique (présure extrait à partir de la caillette de veau). Dernièrement, la consommation de ce produit s'est accrue suite à l'installation dans les villes d'un grand nombre de laiteries traditionnelles qui préparent le *Jben* à partir du lait cru selon des procédures souvent artisanales. A côté de ce secteur traditionnel, certaines unités laitières semi-industrielles se sont aussi intéressées à la fabrication du *Jben*, utilisant du lait soit cru, soit pasteurisé, et des procédures de préparation plus ou moins améliorées. De ce fait, il existe aujourd'hui de nombreuses méthodes de préparation du *Jben*, et par conséquent, plusieurs variétés de fromage frais sont commercialisées sous la dénomination populaire commune de *Jben* (**Benkerroum and Tamime 2004**). Traditionnellement, le fromage *Jben* est fabriqué avec du lait cru de brebis ou de chèvre, acidifié spontanément et coagulé par des enzymes coagulantes d'origine végétale issues des fleurs de cardon, ou d'artichaut, ou du latex de figuier ou des graines de citrouille (**Nouani et al., 2009**).

**3.3.3 Laghounane**

Fromage fabriqué en Kabyle à partir du colostrum, la préparation se fait dans un ustensile en terre cuite enduit d'huile d'olive dans lequel sera versée une petite quantité d'eau salée puis le lait qui sera chauffé et coagulé. Le caillé formé sera découpé et prêt à être consommé (**Agroligne, 2001 ; Lahsaoui, 2009**).

**3.3.4 Takammarat**

C'est un fromage du Hoggar, sa fabrication se fait par introduction d'un bout de caillette de jeunes chevreaux. Le caillé est retiré à l'aide d'une bouche et déposé en petits tas sur une natte. La pâte est ensuite pétrie pour évacuer le sérum puis déposé sur une natte faite de tiges de fenouil sauvage pour l'aromatiser. Les nattes sont ensuite exposées au soleil pendant deux jours pour évaporer le maximum d'eau puis placées à l'ombre jusqu'au durcissement du fromage (**Hellal, 2001**).

**3.3.5 Aoules**

Il est fabriqué à partir du lait de chèvre qui est extrêmement aigre. Après une coagulation intense, le fromage obtenu a une pâte dure (matière sèche représente 92%). L'égouttage se fait dans une paille ensuite, il est reformé sous forme des boules plates séchées au soleil, il peut être consommé en mélange avec les dates (**Abdelaziz and Aitkaci, 1992**).

**3.3.6 Lebaa**

La matière première est le colostrum, parfois il est mélangé avec des oeufs, il est salé puis bouillit pendant 15 mn environ. Le produit obtenu est appelé : *Lebaa* (**Lemouchi, 2008**).

**3.3.7 Madghissa**

Le fromage est connu dans la zone du *Chaouia* coté Est du pays. Il est préparé avec la *Klila* Fraîche après salage et incorporation du lait frais. L'ensemble est porté à ébullition sur feu Doux jusqu'à séparation du caillé et de lactosérum. Après refroidissement du mélange, la marmite est basculée pour éliminer le lactosérum. Le fromage ainsi préparé est une pâte jaune Salée et élastique appelée *Madghissa* (**Aissaoui, 2003**).

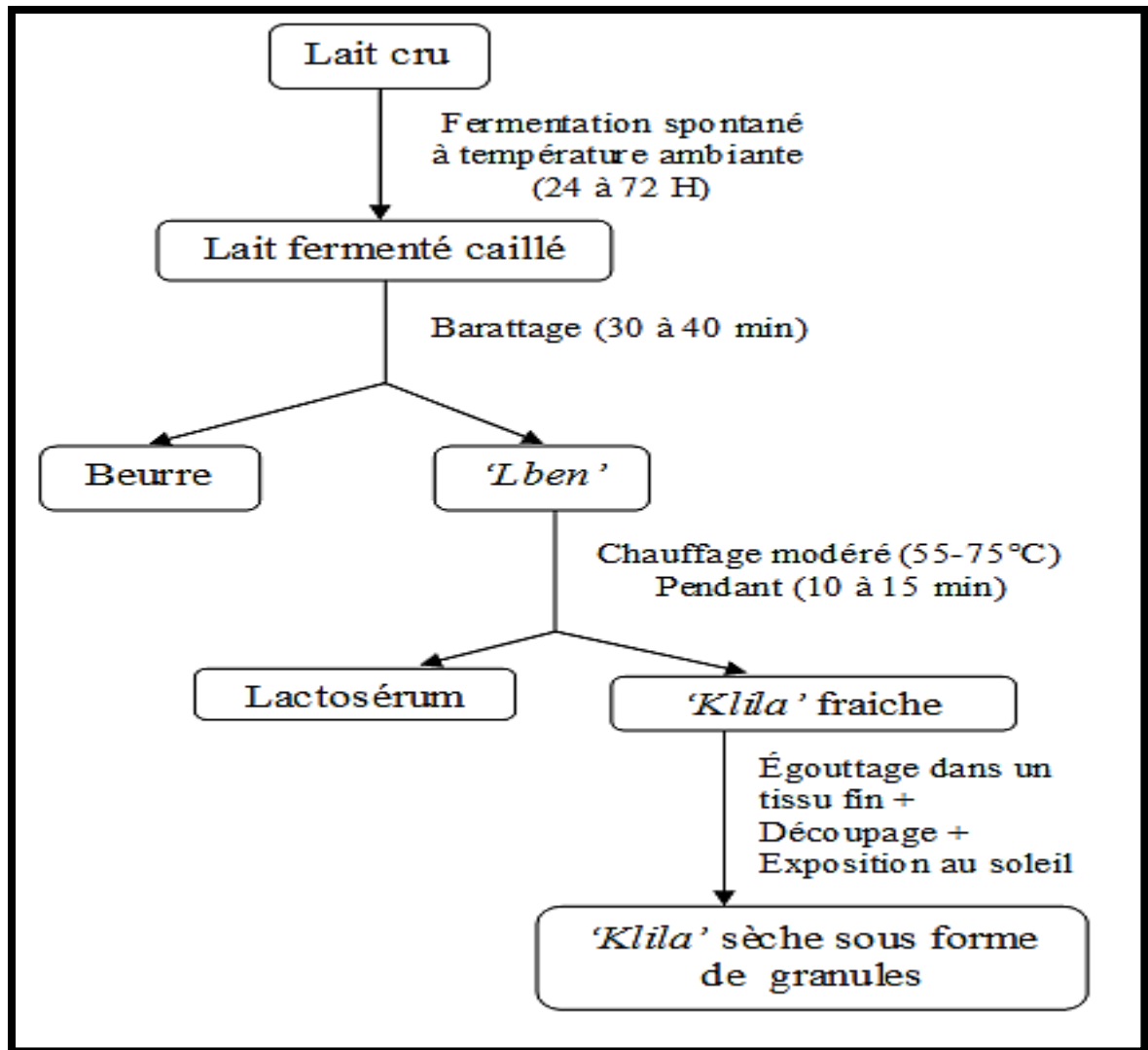
**3.3.8 Méchouna**

Il est fabriqué à partir du lait cru qui est chauffé jusqu'à ébullition. Ensuite, on ajoute de lait fermenté *L'ben* ou *Rayeb* et du sel. En utilisant une gaze, le mélange est laissé égoutter. Il est consommé frais ou avec la galette (**Lemouchi, 2008**).

**3.3.9 Klila**

C'est un fromage ferment produit empiriquement dans plusieurs régions de l'Algérie. La *Klila* est préparée à partir du *Lben* chauffé sur feu doux pendant 12 minutes environ pour favoriser la séparation du caillé et du lactosérum et accélérer le processus d'égouttage. Le lait caillé est égoutté dans un tissu fin (**Touati, 1990**).

Le fromage obtenu est consommée tel qu'il est frais ou après un séchage il est utilisé comme un ingrédient après réhydratation dans les préparations culinaires traditionnelles (**Mennane et al., 2007**).



**Figure 5 :** Diagramme de fabrication du fromage traditionnel *Klila* (Leksir and Chemmam, 2015).

### 3.4 Beurre

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

#### 4. Composition de certains produits laitiers traditionnels

##### 4.1 Composition chimique

Le tableau suivant montre quelques paramètres physico-chimiques de quelques produits traditionnels algériens.

**Tableau 3 :** Valeurs moyennes des paramètres chimiques (g/100g) des principaux produits laitiers traditionnels en Algérie (**Boubekri et al., 1986 ; Boubekri and Ohta, 1996**)

Paramètres	Valeurs moyennes		
	<i>Lben</i>	<i>Klila</i>	<i>Smen</i>
Produit traditionnels			
Humidité	90.8	12.530	14
PH	4.2	4.71	-
Acidité	60	42.24	-
NaCl	0.08	0.507	1.5
Lactose	2.14	ND	1.2
matière grasse	0.2	13.843	81
Protéines	1.93	53.856	3.2

ND - non déterminé

##### 4.2 Composition microbiologique

Le tableau suivant illustre quelques données sur les microorganismes existant dans quelques produits laitiers algériens et dans d'autres similaires.

**Tableau 4 :** Principaux microorganismes caractéristiques de quelques produits laitiers fermentés en Algérie et produits similaire (**Harrati, 1974 ; Boubekri and Ohta1996**).

	<i>Bactéries lactiques</i>				Levure
	<i>Lactococcus/streptococcus</i>	<i>Leuconostoc</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Enterococcus</i>	
<i>Lben</i> d'Algérie	<i>Lc. lactis</i> , <i>Sp cremoris</i> , et <i>Sp diacetyllactis</i>	<i>Leu. mesenteroides</i> ,	(-)	ND	ND
<i>Klila</i> d'Algérie	(+)	(+) <i>Pediococcus acidilactis</i>	<i>Lb. confusus</i>	<i>E. faecalis</i> <i>E. faecium</i>	ND

ND - non déterminé

*CHAPITRE III : PROPRIETES  
TECHNOLOGIQUES DES BACTERIES  
LACTIQUES*

**Introduction**

Le champ d'application des BL est large et leurs propriétés sont importantes et influentes sur la qualité finale des produits alimentaires. Il permet d'assurer la qualité sensorielle des produits et de mieux maîtriser le processus de fermentation (**Casaburi et al., 2007; Muthukumarasamy and Holley, 2006**). Plusieurs aspects technologiques doivent être pris en compte dans la sélection des bactéries lactiques tels que :

**1. Activité antimicrobienne des bactéries lactique**

Les BL produisent de nombreux métabolites tels que les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, la reuterine, le diacétyl et les bactériocines qui ont des propriétés antimicrobiennes (**Dortu and Thonart, 2009**). Ces mécanismes antimicrobiens ont été exploités pour améliorer la préservation des aliments.

**1.1 Acides organiques**

Parmi les quels l'acide lactique et l'acide acétique et tous ceux causant la diminution du pH qui induit à une acidification du cytoplasme cellulaire; en conséquence les flores acido-sensibles sont inhibées (**Annika and Marc, 2004**). Les acides organiques sont produits soit par les bactéries homofermentaire, soit par la bactérie hétérofermentaire. Le métabolisme du pyruvate conduit à la formation uniquement d'acide lactique chez les homo fermentaires tandis qu'il conduit à la formation d'acide lactique, acétique et formique, d'éthanol et de dioxyde de carbone chez les hétéro fermentaires (**Annika and Marc, 2004**).

En général, la production d'acides organiques permet une acidification du milieu qui peut limiter la croissance de certaines bactéries entre autres les bactéries indésirables et pathogène. Ainsi, les acides organiques ont différentes actions telles qu'un excellent pouvoir bactéricide ou un effet bactériostatique contre les micro-organismes pathogènes se trouvant dans le tube digestif. Les acides organiques sont un des agents classiques de préservation des aliments (**Brul and Coote, 1999**) et sont reconnus comme des additifs alimentaires.

**1.2 Le peroxyde d'hydrogène**

Il est depuis longtemps, reconnu comme un agent majeur de l'activité antimicrobienne des BL en particulier celle des *Lactobacilles* qui peuvent le générer par plusieurs mécanismes. Vu qu'elles soient catalase négatif et certaines souches peuvent accumuler du peroxyde

d'hydrogène lorsqu'elles sont cultivées en aérobiose ou en micro-aérobiose ce qui induit l'oxydation des lipides membranaires et la destruction des structures des protéines des cellules des différents microorganismes parmi en on cite *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas. spp.* Sa production peut avoir lieu selon plusieurs modes mettant enjeu des NADH peroxydases ou des flavoprotéines oxydases (Ammor, 2004 ; Annika and Marc, 2004; Smaoui, 2010 ; Boumehira, 2010).

### 1.3 Le dioxyde de carbone

Le dioxyde de carbone est produit principalement par les BL hétérofermentaires. Il peut jouer un rôle en créant un environnement anaérobie qui inhibe les décarboxylations enzymatiques, et l'accumulation de CO<sub>2</sub> dans la bicouche lipidique de la membrane peuvent provoquer un dysfonctionnement de la perméabilité (Ammor *et al.*, 2006). Le CO<sub>2</sub> peut effectivement inhiber la croissance de microorganismes colonisant de nombreux produits alimentaires, notamment des bactéries psychrotrophes Gram-négatives (Farber, 1991).

### 1.4 Les composants aromatiques

#### 1.4.1 La reutérine

La reutérine est une substance antimicrobienne qui est produite comme métabolite intermédiaire pendant la fermentation anaérobie du glycérol par certaines espèces de *Lactobacillus* ainsi que par d'autres genres bactériens non lactiques tels que *Bacillus*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Clostridium* (El-Ziney *et al.*, 1998). La fermentation du glycérol se déroule en deux étapes. Le glycérol sera tout d'abord déshydraté par une glycerol deshydratase pour former de la reutérine qui sera ensuite réduite en 1,3- propanediol par une oxydoréductase. Cette deuxième étape est inhibée en l'absence de glucose. La reutérine s'accumule alors dans le microorganisme producteur. A haute concentration, elle est excrétée dans le milieu. Sa toxicité contre la cellule productrice limite sa production, certaines espèces comme *Lactobacillus reuteri* y sont plus résistantes (Vollenweider, 2004). La reutérine a un large spectre d'activité. Elle a une action contre les bactéries Gram-positif ou Gram-négatif, les eucaryotes, les virus, les champignons et les protozoaires. Elle a des applications aussi bien dans le domaine médical que dans le domaine alimentaire (Vollenweider, 2004).

### 1.4.2 Le diacétyl

Il est synthétisé par différents genres de BL comme *Lactococcus* sp, *Leuconostoc* sp, *Lactobacillus* sp, et *Pediococcus* sp. Le diacétyl (C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>2</sub>) est un des composants aromatiques essentiels du beurre. Il a des propriétés antimicrobiennes qui sont dirigées contre les levures, les bactéries Gram-négatif et les bactéries Gram-positif non lactiques, ces dernières y sont néanmoins moins sensibles (El Ziney *et al.*, 1998 ; Caplice and Fitzgerald, 1999).

### 1.5 Bactériocines

**Klaenhammer (1988)** est définit les bactériocines comme des protéines, ou complexes de protéines, avec une activité bactéricide contre des espèces proches de la souche productrice. Les bactériocines représentent une large classe de substances antagonistes qui varient considérablement du point de vue de leur poids moléculaire, de leurs propriétés biochimiques, de leur spectre d'action et de leur mode d'action (**Klaenhammer, 1988**) La plupart des bactériocines sont de petites molécules, stable à la chaleur, cationique, amphiphile et perméables. Ils ont un spectre d'activité limité contre les espèces de même genre mais dans certain cas, l'effet inhibiteur inclue les bactéries altérantes et pathogènes de l'aliment (**Field, 2007**). Les bactériocines produit par les BL ont un grand intérêt dans ces dernières années grâce à leur potentiel d'application dans les industries alimentaires comme préservatives naturel qui se produit directement dans la culture alimentaire.

### 3. Activité acidifiante

L'activité acidifiante est l'une des principales fonctions des BL dans la fabrication des produits fermentés, les BL provenant des matières premières ou de l'environnement sont responsables de la production d'acide lactique résultant de l'utilisation des hydrates de carbone (**Visessanguan *et al.*, 2006**). Dans la pratique industrielle, les principales voies permettant d'agir sur les profils d'acidification sont le choix des ferments, les doses d'ensemencement et les profils de température (**Dacosta, 2000**). L'activité acidifiante des ferments dépend de la nature et de l'équilibre entre les différentes souches présentes, en particulier, la présence de certaines espèces ou mélanges d'espèces différentes va permettre d'obtenir l'activité voulue. Cependant, il est important de souligner qu'il existe une forte variabilité de l'activité acidifiante des BL, y compris au sein d'une même espèce (**Corrieu and Luquet, 2008**).

Les conséquences, d'ordre physicochimique et microbiologique, peuvent se résumer ainsi

**Béal *et al.*, (2008) :**

- Accumulation d'acide lactique participant à la saveur des aliments fermentés ;
- Abaissement progressif du pH des milieux de culture et des matrices alimentaires ;
- Limitation des risques de développement des flores pathogène et d'altération dans les produits finaux.

#### **4. Activité protéolytique**

Les BL possèdent des protéinases, des peptidases nécessaire à la dégradation des protéines du lait en peptides et acides aminés. Ceux-ci peuvent alors être transformés en alcools et en acides. Cette activité protéolytique intervient de ce fait sur le rendement fromager, la texture et la saveur typique du fromage et par conséquent sur les caractéristiques du produit final (**Chahbal *et al.*, 1991 et 1993**).

Dans les fromages, l'activité des enzymes protéolytiques des BL est fondamentale car elle va participer à la formation du goût ou des arômes : la protéolyse due aux BL va surtout conduire à des peptides courts et à des acides aminés libres. Ces derniers sont des précurseurs pour de nombreux produits d'arômes. En effet, la méthionine peut conduire à des composés soufrés caractéristiques. Ceci après leur dégradation par la flore d'affinage (**Schirch *et al.*, 1985 ; Ott *et al.*, 1997**).

#### **5. Aptitude aromatisant**

Les BL sont capables de produire de nombreux composés aromatiques (tels que : l'acétolactate, l'acétaldéhyde, le diacétyl, l'acétoïne, l'éthanol, l'acétate et le formiate, ...etc.) principalement à partir du lactose, du citrate, des acides aminés et des matières grasses. Cette fonctionnalité est particulièrement importante lors de l'élaboration des laits fermentés, des fromages frais, crèmes et *Beurre*, dont l'arôme principal est lié à cette activité microbienne (**Bourgeois and Larpent, 1996 ; Gerrit *et al.*, 2005 ; Cholet, 2006**).

## 6. Production des exopolysaccharides

La plupart des microorganismes synthétisent les polysaccharides. Certains se trouvent à l'intérieur de la cellule. D'autres sont des composants de la paroi. Un troisième groupe de polysaccharides est excrété à l'extérieur de la cellule d'où vient le terme "exopolysaccharide" (EPS) ou "polysaccharide exocellulaire". Deux types d'EPS, soit excrété dans le milieu environnant, soit lié à la surface de la cellule sous forme de capsule, peuvent être produits par certaines bactéries lactiques (**Lianzhong et al., 2008 ; Canquil et al., 2007 ; Topisirovic et al., 2006 ; Walling et al., 2005 ; Macedo et al., 2002**). La capacité des BL à synthétiser des EPS joue un rôle important pour la consistance des produits transformés (**Welman and Maddox, 2003 ; Ruas et al., 2002**). Ces composés polymères sont généralement considérés comme des agents épaississants naturels en industrie alimentaire. Les *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* produisant des EPS sont utilisés en tant que starters fonctionnels dans la fabrication des yaourts, ceci afin d'améliorer la texture et augmenter la viscosité des produits finis (**Durlu et al., 2007 ; Amatayakul et al., 2006**). L'utilisation des EPS produits par les souches *Lactococcus lactis* et *Lactococcus cremoris* est très prometteuse pour la structure et la viscosité des produits laitiers fermentés (**Ruas et al., 2005**).

# *MATERIELS ET METHODES*

De nombreux fromages artisanaux sont fabriqués en Algérie, parmi eux le fromage traditionnel dénommé *Klila*. Afin de situer ce fromage dans la société, une enquête a été établie auprès de 130 personnes dans des milieux urbains et ruraux de l'Est de l'Algérie (Khenchela et Oum El Bouaghi). En parallèle, des analyses microbiologiques ont été réalisées sur 4 échantillons.

### 1. Enquête

#### 1.1 Objectif

Le but de cette enquête est de prospecter la pratique traditionnelle du fromage *Klila* dans la région Est de l'Algérie, rassembler le maximum d'informations sur la consommation et le mode de fabrication afin d'établir un diagramme de fabrication de *Klila*.

#### 1.2 Matériel

Le support de l'enquête, est un questionnaire (annexe 1). Il est conçu autour des éléments suivants :

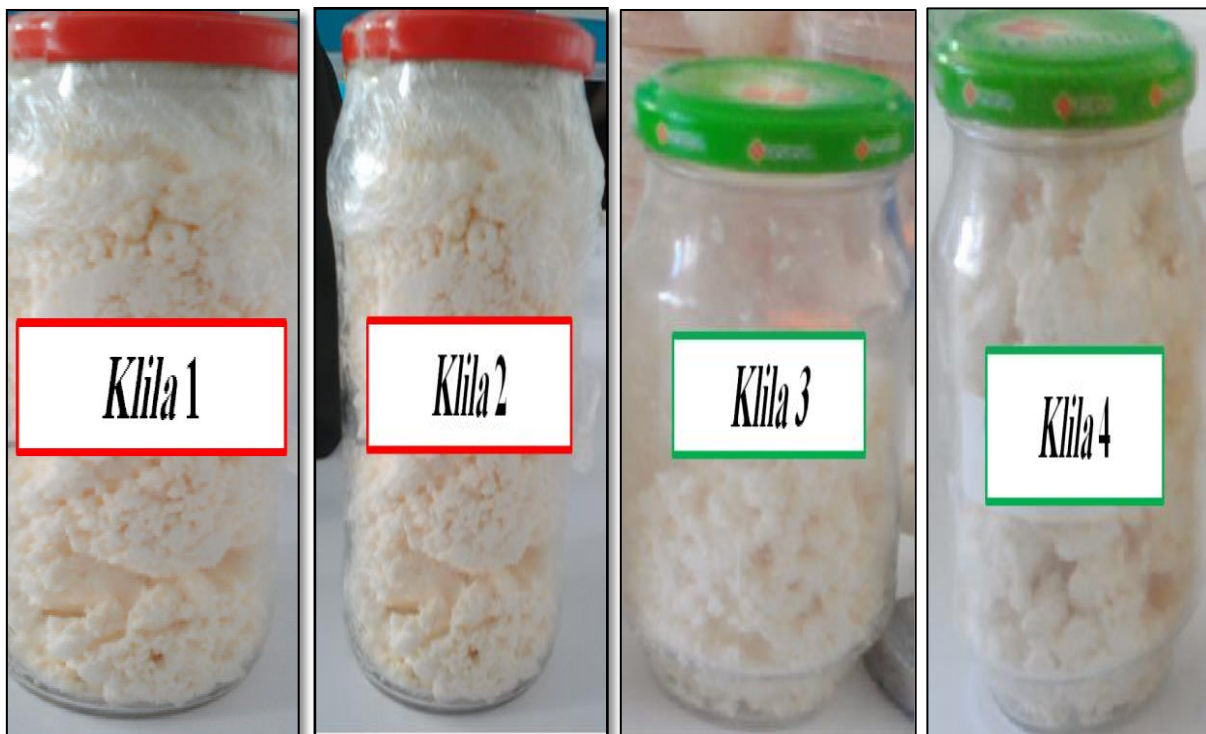
- **Informations sur les personnes à enquêter** : âge, sexe, origine et situation professionnelle, situation familiale.
- **Description du procédé de fabrication** : cette partie comprend la description de la matière première et du matériel utilisé pour la fabrication, ainsi que le procédé et les paramètres physico-chimique qui conditionnent la coagulation et la fermentation de lait.
- **Condition de fabrication et de conservation de la *Klila*** : cette partie comprend les différents procédés et moyens utilisés pendant la fabrication et la conservation.
- **Mode de consommation** : cette partie comprend les différentes utilisations de ce produit traditionnel.

#### 1.3 Lieu et période de l'investigation

Ce travail est réalisé au niveau de 6 communes des wilayas de : Khenchela et Oum el Bouaghi. L'enquête est effectuée en mai 2017 durant 15 jours. L'échantillon global est constitué de 130 familles.

## 2. Echantillonnage

Dans cette étude nous avons utilisé 4 échantillons obtenus à partir de la wilaya de Khenchela et la wilaya d'Oum El Bouaghi. La première est située dans les Aurès, dans l'Est Algérien, et la deuxième est située au contact du Tell et des Aurès. Les 2 premiers échantillons sont collectés le **27-04-2017**. Alors que les 2 autres échantillons sont collectés le **03-05-2017**. Ces prélèvements ont été placés dans des flacons stériles, puis conservés à froid à 4°C au laboratoire pour des analyses ultérieures.



**Figure 6:** Les 4 échantillons de *Klila*.

## 3. Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM)

20 g de l'échantillon *Klila* a été homogénéisé avec 180 ml de l'eau physiologique stérile (0,9%), additionnée de peptone (0,18%) (Annexe 2) (**Kacem and Karam, 2006; Cheriguene et al., 2007**). Le pH de l'échantillon est déterminé en utilisant un pH-mètre, trois répétitions ont été réalisées (**Owusu et al., 2012**). La solution obtenue a servi à préparer des dilutions décimales (**Jerome et al., 2004**).

Le dénombrement de la FTAM est réalisé en mettant 1 ml de chaque dilution au centre de la boîte de pétri puis on a coulé environ 15 ml de la gélose PCA (Annexe 3) préalablement

fondue et refroidie à 45°C. La flore est dénombrée après 72 heures d'incubation à 30°C afin de connaître la qualité nutritionnelle et marchande de notre fromage (Guiraud, 1998).

### 4. Isolement et identification des bactéries lactiques

#### 4.1 Isolement et dénombrement des bactéries lactiques

Pour chaque dilution un volume de 100 µl a été étalé en surface sur les milieux d'isolement (Kacem and Karam, 2006; Cheriguene *et al.*, 2007). L'isolement des bactéries nécessitent l'emploi de milieux sélectifs (Guiraud, 1998). Le milieu de culture utilisé pour l'isolement des bactéries lactiques est le milieu M17 (Annexe 4). Les cultures sont incubées pendant 48- 72 h à 30°C dans les conditions d'anaérobiose. L'anaérobiose est créée par le biais d'une bougie (Annexe 5).

#### 4.2 Purification des bactéries lactiques

Après développement des colonies, les bactéries isolées sont repiquées dans le milieu de culture MRS bouillon (Annexe 4). L'incubation de tous les tubes est effectuée à 30°C pendant 24-48h jusqu'à l'obtention de trouble (Prescott and Klein, 2007).

#### 4.3 Conservation des souches

Les cultures pures sont conservées à 4°C au réfrigérateur.

#### 4.4 Identification des bactéries lactiques

L'identification des isolats bactériens sélectionnés a été effectuée par observation macroscopique, microscopique et des tests biochimiques. Sur chacune des boîtes servant aux dénombrements, nous classons les colonies en catégories selon leur aspect macroscopique. Dans chaque catégorie, nous choisissons aléatoirement une colonie supposée représentative parmi celles, observées pour réaliser les premiers tests d'orientation. Pour une identification préliminaire des bactéries lactiques, nous nous sommes basés sur des études microscopiques (les formes caractéristiques des cellules microbiennes, leur arrangement et leur coloration de Gram), de la mobilité, du test de catalase et du type fermentaire (Ho, 2008).

##### 4.4.1 Tests morphologiques

###### 4.4.1.1 Examen macroscopique

Cette étude est basée sur l'observation visuelle de la culture des isolats sur le milieu M17 solide, milieu MRS liquide; pour caractériser la taille, la forme et la couleur des colonies, et le

trouble dans le milieu liquide. L'étude macroscopique nous a permis de noter le diamètre, la pigmentation et l'aspect des colonies.

### 4.4.1.2 Examen microscopique

#### 1. Etat frais

Un tube contenant le milieu MRS liquide (10ml) est inoculé par une colonie isolée sur gélose M17, on incube à 30°C pendant 24-48 h, jusqu'à l'apparition d'un trouble microbien. Pour la mobilité et la forme une lame additionnée d'une goutte de la culture est observée au microscope (**Attallah and belyagoubi, 2003**).

#### 2. Coloration de Gram

La coloration de Gram a été effectuée selon le protocole décrit par **Delarras (2007)** (Annexe 6). Cette technique est l'une des méthodes de coloration la plus utile, elle permet de diviser les bactéries en deux grands groupes : les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif (**Tortora et al, 2003**). L'étude microscopique par l'intermédiaire de la coloration de Gram, nous a permis d'examiner la forme, le mode d'association et le Gram de ces bactéries. Avec cette coloration double, les bactéries « Gram-positif » apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries « Gram-négatif » sont colorées en rose ou en rouge (**Delarras, 2007**).

### 4.4.2 Tests biochimiques

#### 4.4.2.1 Test de la catalase

La catalase permet la dégradation de l'eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en oxygène et en eau. Elle est mise en évidence en émulsionnant une colonie de l'isolat à tester dans une solution fraîche d'eau oxygénée. Un dégagement gazeux abondant traduit la décomposition de l'eau oxygénée sous l'action de l'enzyme à tester (**Guiraud, 2003**).

#### 4.4.2.2 Type fermentaire

Ce test permet de savoir le type du métabolisme (homofermentaire ou heterofermentaire) par lequel le substrat carboné est transformé, et la production du gaz à partir la dégradation du glucose. Ce test est effectué par l'ensemencement des souches dans un milieu MRS liquide glucosé puis incubée à 30°C pendant 24h à 48h (**Bourgeois et al., 1991**).Le développement

d'une bactérie hétérofermentaire se manifeste par l'apparition des billes d'air dans le tube après agitation manuelle alors qu'il est absent chez les bactéries homofermentaires.

### 4.4.2.3 Thermo résistance

Des tubes contenant 10 ml de MRS liquide sont inoculés par les souches isolées, ensuite les tubes sont incubés à 10°C et à 45°C pendant 48 à 72h. Un résultat positif se traduit par un trouble en comparaison avec un tube témoin non ensemencé (**Badis *et al.*, 2005**).

### 4.4.2.4 Croissance en présence de différentes concentrations de NaCl

Ensemencement des isolats dans des tubes de bouillon de MRS à 6.5 %, 18% de NaCl l'incubation se fait à 30°C pendant 24 h. La croissance de ces bactéries se manifeste par un trouble du milieu en comparaison avec un tube témoin non ensemencé (**Badis *et al.*, 2005**).

### 4.4.2.5 Croissance à différents pH

Ensemencement des isolats dans des tubes de bouillon de MRS à pH =4.4, et à pH = 9.6 l'incubation se fait à 30°C pendant 24 heures. La croissance de ces bactéries se manifeste par un trouble du milieu en comparaison avec un tube témoin non ensemencé (**Carr *et al.*, 2002 ; Mathara *et al.*, 2004**).

### 4.4.2.6 Mannitol-mobilité

Le mannitol est un produit de réduction du D-mannose. Il permet de rechercher simultanément la fermentation du mannitol et la mobilité (Annexe 7). On a ensemencé les souches étudiées dans le milieu par piqûre centrale, et incubé à 30°C pendant 18 à 24h. Le virage au jaune du milieu indique la fermentation du mannitol, une diffusion dans la gélose indique la mobilité des bactéries (**Marchal *et al.*, 1991**).

## 5. Mise en évidence de l'activité antifongique

Dans cette partie, les isolats sélectionnés sont testés contre 2 souches fongiques mentionnées dans le tableau 5.

**Tableau 5** : les souches fongiques testées et leurs références

<b>Souche fongique</b>	<b>Référence</b>
<i>Aspergillus flavus</i>	<i>UBOCC-A-106028</i>
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	<i>UBOCC</i>

Les isolats sont mis en culture dans le milieu MRS bouillon pendant 24 h à 30°C. Après incubation, 200 µl de la culture bactérienne est met dans des boite de pétri puis 7 ml de milieu WFH (annexe 8), préalablement fondue et refroidie à 45°C a été versé, on a mélangé soigneusement la culture bactérienne dans le milieu de culture et laissé les boites se solidifier sur la palliasse. Les boites sont incubées à 30°C pendant 24 h. Après 24 h d'incubation la souche *Aspergillus flavus* est mise au centre de boite à l'aide d'une anse de platine.

Pour la levure *Rhodotorula mucilaginosa* une suspension est préparée par ensemencement dans 10 ml d'eau physiologique stérile puis 100 µl de la suspension est mis au centre de la boite. Les boites sont ensuite incubées à 30°C et la croissance fongique est évaluée visuellement après 3 et 7j et comparés au témoin négatif et positif (Céline *et al.*, 2016).

## *RESULTATS ET DISCUSSION*

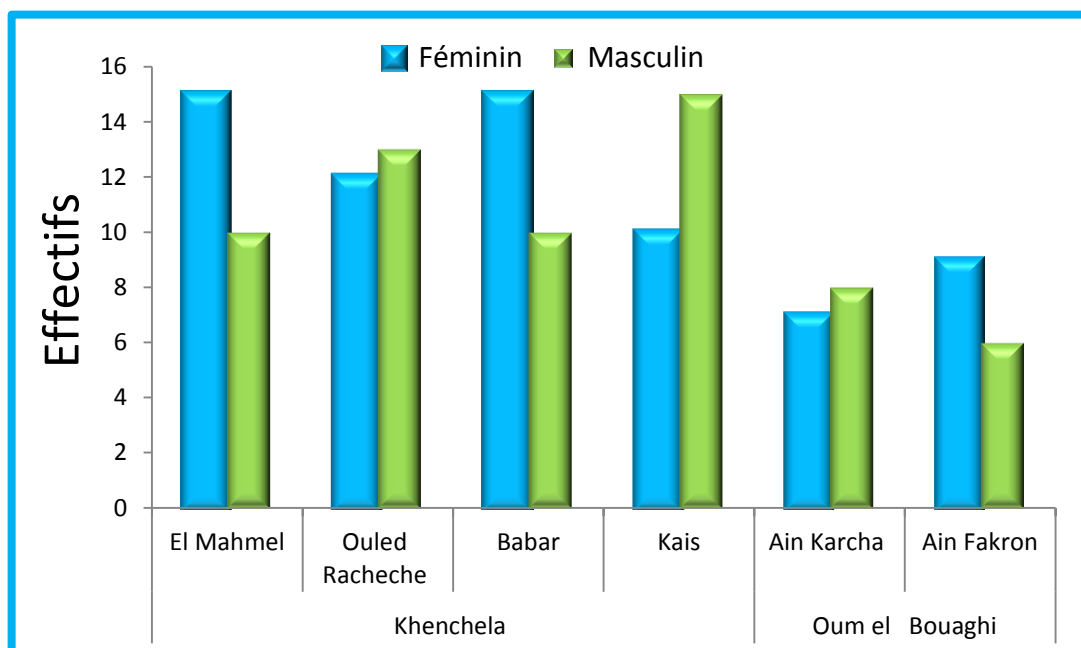
Dans cette partie nous détaillerons les résultats microbiologiques, obtenus à partir de l'étude réalisée sur le fromage traditionnel *Klila*. Et les différentes caractéristiques de ce fromage selon l'enquête réalisée.

### 1. Résultats de l'enquête

Les résultats de l'enquête nous ont permis de montrer que le fromage traditionnelle *Klila* est connu, préparé, conservé et consommé, aussi bien dans les régions rurales qu'urbaines.

#### 1.1 Caractéristiques des personnes interviewées

L'enquête a pu toucher un échantillon global de 130 personnes (femme et homme), résidants dans les wilayas de Khenchela et de Oum El Bouaghi.



**Figure 7:** Effectifs des personnes questionnées dans les deux wilayas.

#### 1.2 Délimitation de la zone géographique de la fabrication du fromage *Klila*

Nous avons questionné dans notre enquête 89 personnes en zones urbaines et 41 en zones rurales :

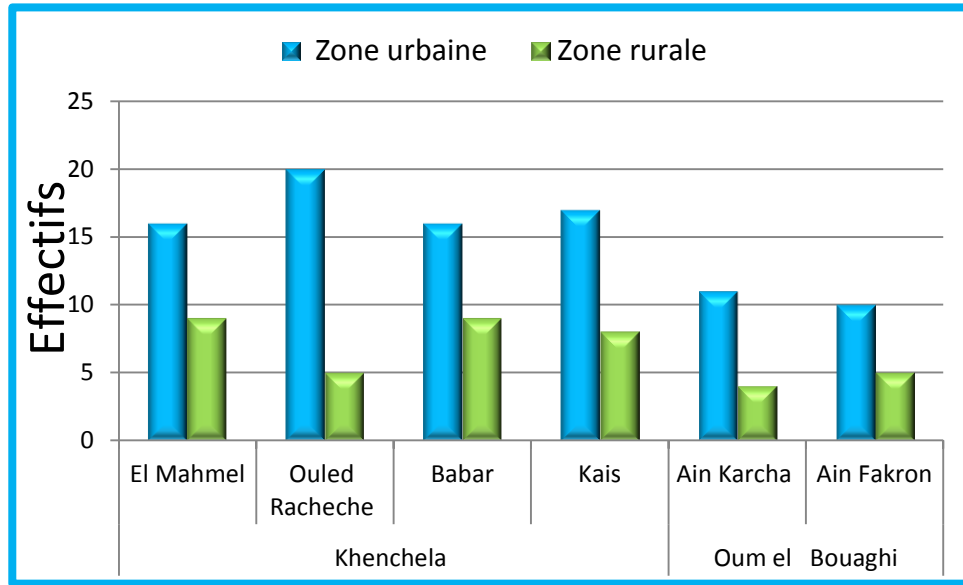


Figure 8: Répartition des enquêtés par zones urbaines et rurales

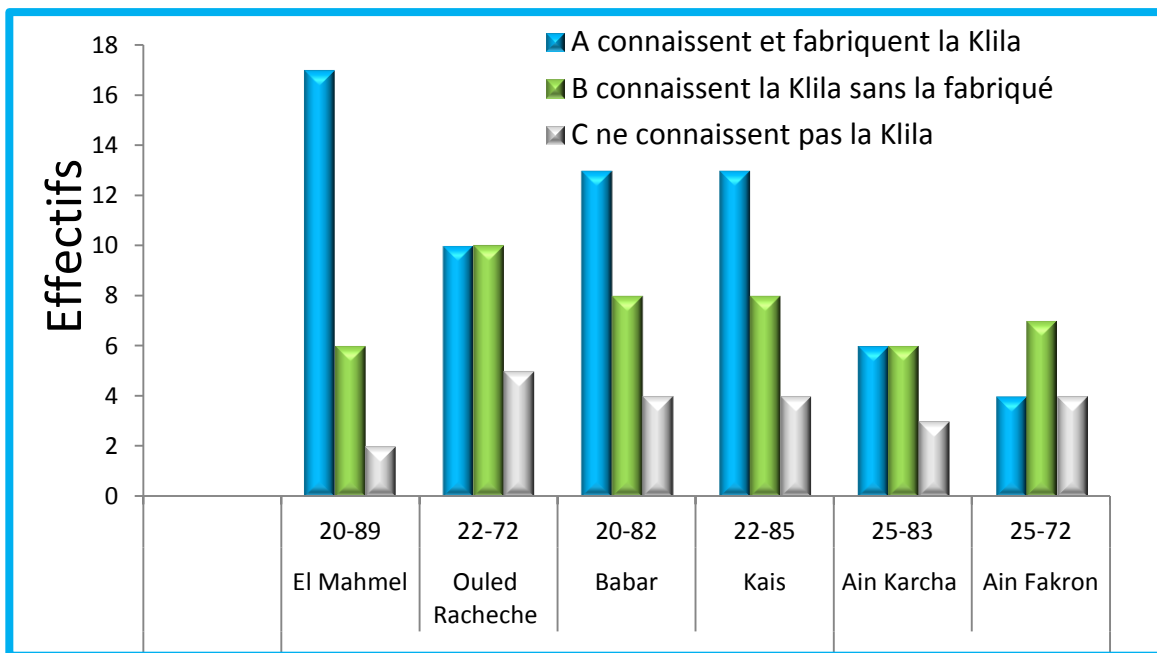


Figure 9: Répartition des enquêtés selon la connaissance ou non de la pratique de Klila.

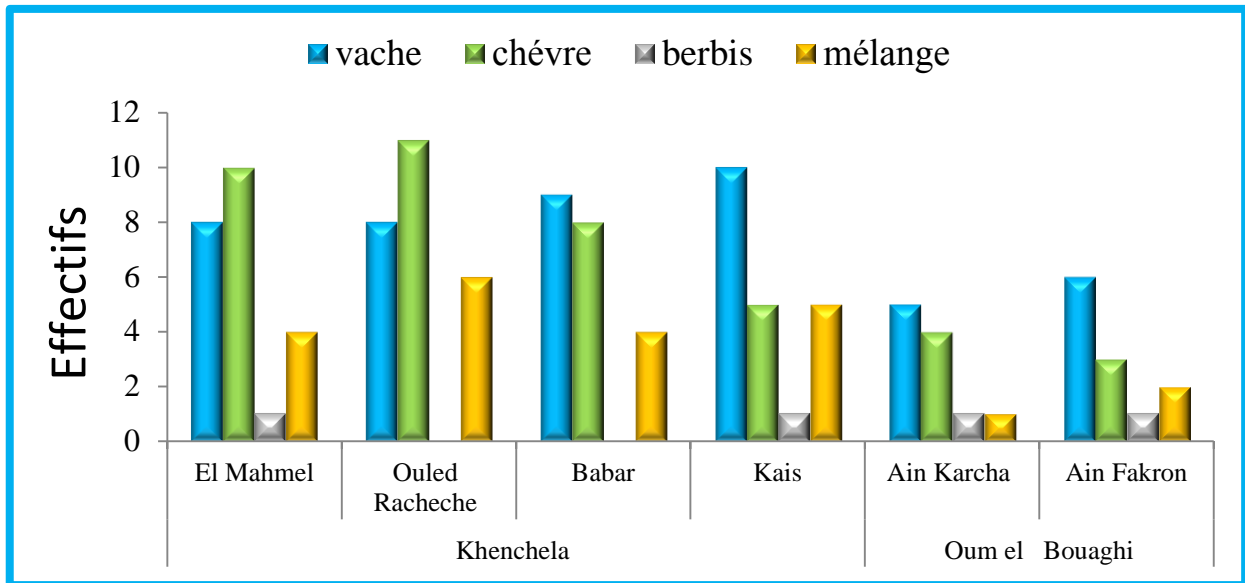


Figure10: Types de lait utilisés en fabrication.

### 1.3 Procédé de fabrication

Lors de la réalisation de l'enquête, nous avons collecté des informations concernant le procédé de fabrication, de conservation et de consommation de ce fromage traditionnel. Nous avons conclu que, les procédés de fabrication de conservation et de consommation sont les mêmes dans toutes les zones de l'enquête. La *Klila* peut être fabriquée avec le lait de chèvre, de brebis ou de vache. Le mélange peut également être utilisé. Cependant, l'ensemble des résultats montrent que le lait de vache cru est le plus utilisé pendant la préparation de ce fromage suivi par le lait de chèvre.

Le lait subit une fermentation spontanée à température ambiante pendant 2 à 4 jours afin d'obtenir un lait coagulé ce dernier a été baraté à l'aide d'une *Chakoua* ou barate électrique. Après le barattage on obtient la crème et le *Lben*, la crème qui est récupérée entièrement, alors que le *Lben* est laissé un certain temps (environ un jour) puis il subit un chauffage thermique. Le chauffage permet la séparation du coagulum qui est la *Klila* et le lactosérum. La séparation du lactosérum permet une déshydratation partielle du fromage.

Le fromage est consommé telle qu'il est ou après un séchage. Après le séchage la *Klila* est conservée dans des sacs de tulle, préparés spécialement pour cet usage, ou des sacs en peau de chèvre appelés *mezwed*. Le diagramme de fabrication de la *Klila* est présenté dans la figure 11:

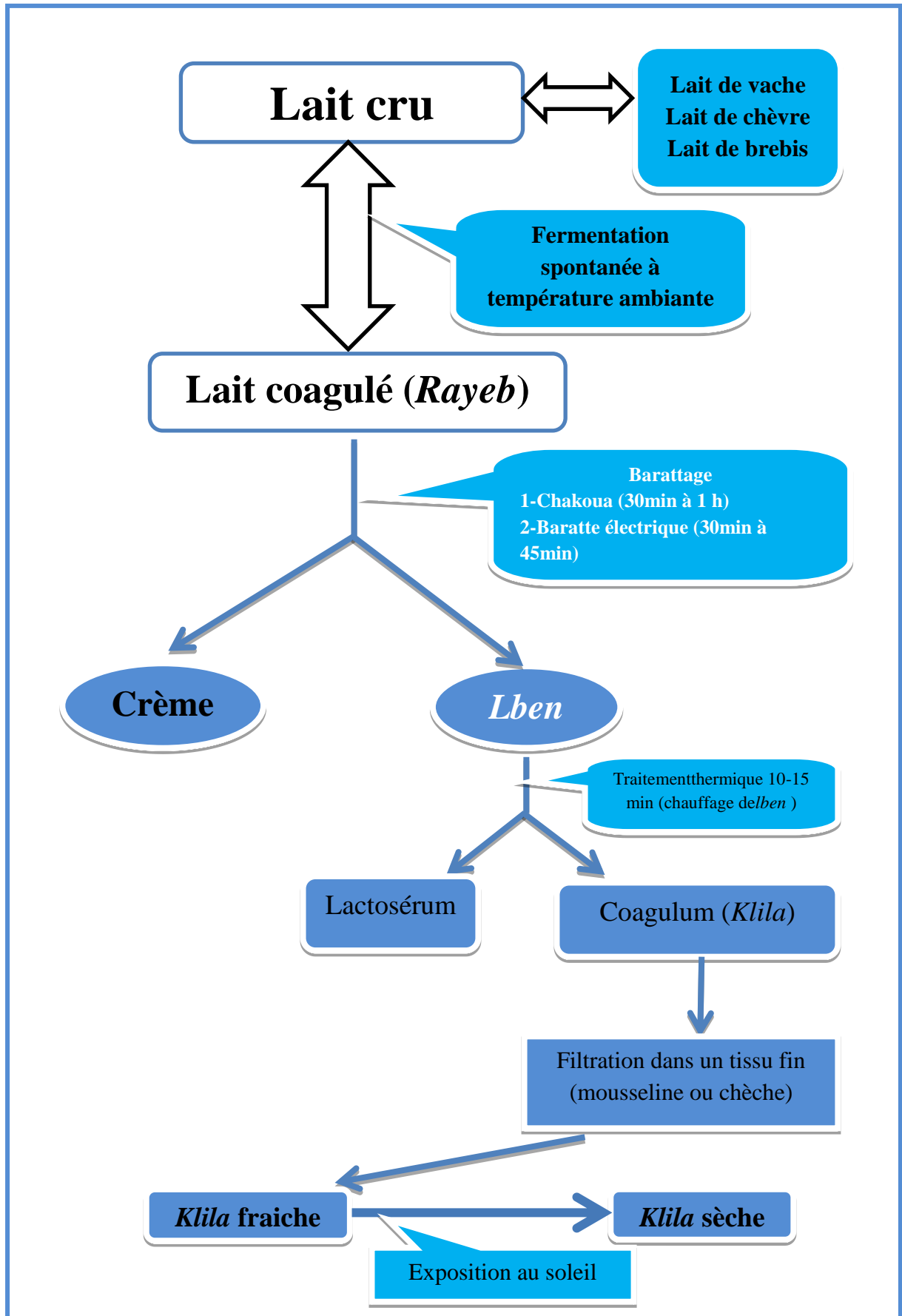


Figure 11 : Diagramme de fabrication de la Klila.

2. Dénombrement de la FTAM et de la flore lactique

Le dénombrement, des FTAM sur milieu PCA, et de la flore lactique sur milieu M17 sont présentés dans le tableau 6 :

Tableau 6:Dénombrements exprimés en UFC/g

Echantillon	Milieux	
	M17	PCA
<b>K1</b> (pH 5,13±0,01)	1,50.10 <sup>6</sup>	2,89.10 <sup>6</sup>
<b>K2</b> (pH 4,90±0,01)	4,40.10 <sup>5</sup>	1,32.10 <sup>6</sup>
<b>K3</b> (pH 5,18±0,01)	1,10.10 <sup>6</sup>	1,12.10 <sup>6</sup>
<b>K4</b> (pH 5,06±0,01)	1,60.10 <sup>6</sup>	8,90.10 <sup>5</sup>

Les valeurs de pH des échantillons analysés dans la présente étude, montrent que la *Klila* possède une valeur moyenne de 5.06±0,12, qui est inférieure à celle rapportée par **Belyagoubi et Abdelouahid (2013)**. Ces auteurs ont révélé pour le *Jben* de la région de Mecheria, une valeur de pH de 6,38. Selon les travaux de **Kacem et Karam (2006)**, les analyses de pH de la *Shmen* de lait de chamelle de quatre wilayas d’Algérie, ont présenté des valeurs qui varient entre 3,10 et 4,87. Ces différences dans les valeurs de pH de la *Klila* par rapport aux autres produits sont probablement dues à la méthode de fabrication, au type de lait ou à la date de préparation (**Ouadghiri, 2009**).

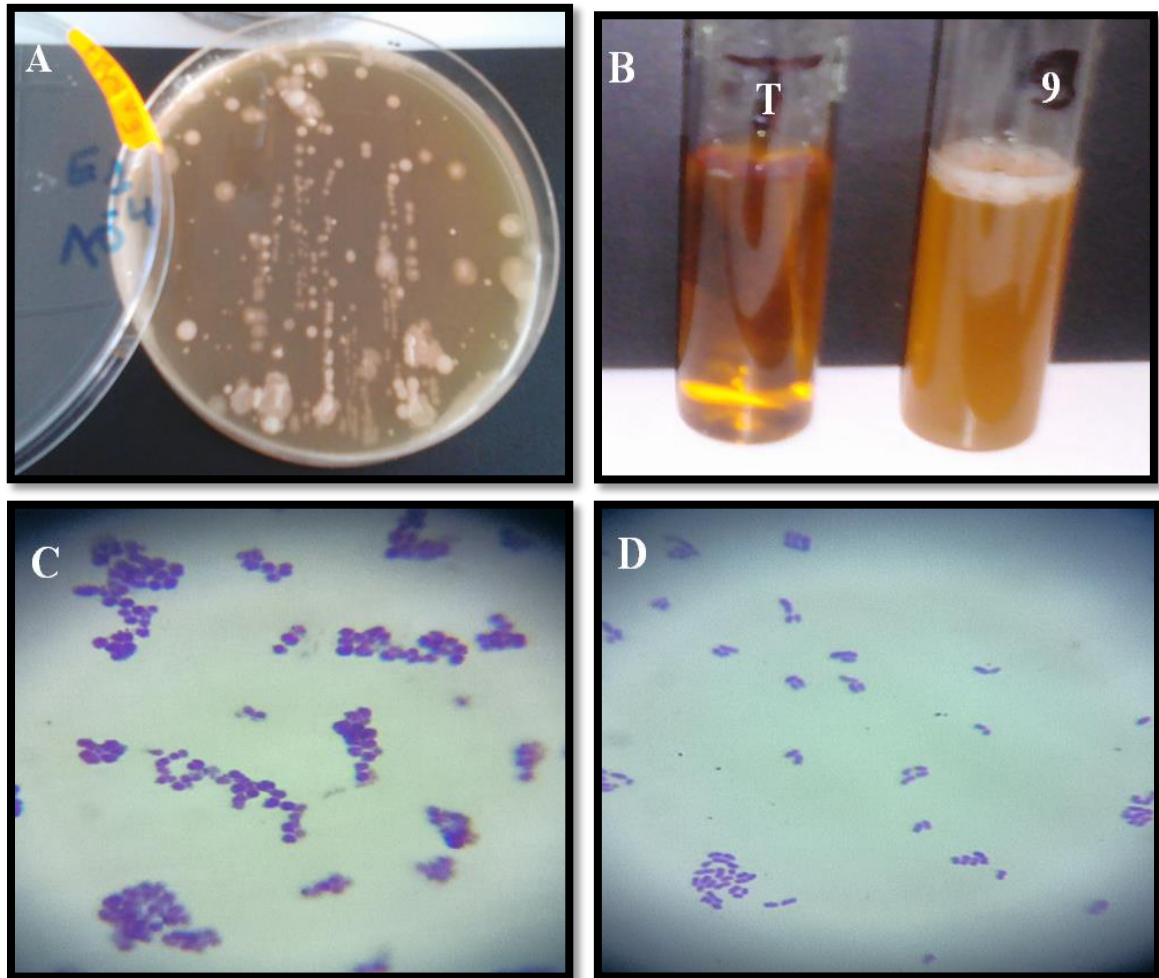
Le dénombrement de la FTAM montre une charge microbienne moyenne de 1,55.10<sup>6</sup>±0,90 UFC/g. Cette valeur est supérieure à l’indice de qualité sanitaire (FTAM à 10<sup>5</sup> UFC/g). Par ailleurs, elle est inférieure à l’indice de qualité marchande à savoir une FTAM entre 10<sup>6</sup> et 10<sup>8</sup> UFC/g (**Bonnefoy et al., 2002**). Nos résultats de la FTAM concordent avec ceux obtenus par **Rhiat et al., (2013)**, dans une étude sur la *Klila* et le *Jben* marocains fabriqués en conditions contrôlées, dont les FTAM décrites sont respectivement de 1,2. 10<sup>6</sup> et de 0,9.10<sup>5</sup> UCF/g. D’autre part, la valeur de la FTAM des échantillons de *Klila* étudiés obtenu sont supérieurs aux valeurs mentionnées par **Mennane et al., (2007)** concernant le *Jben* (7,5.10<sup>4</sup>UFC/g) .

Dans la présente étude, les échantillons de *Klila* possèdent une charge moyenne de bactéries lactiques égale à 1,16.10<sup>6</sup> UFC/g. Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par de nombreux auteurs, qui ont montré que l’écosystème de ce type de fromage ou de fromages

similaires comme le *Jben*, est dominé par la flore lactique indigène (Ouahghiri, 2009 ;Mennane et al, 2007).

### 3. Identification macroscopique et microscopique des isolats

33isolats sont sélectionnés à la base des caractéristique macro et microscopiques (figure 12 et tableau 7 ).



**Figure12** :Caractéristiques microscopiques et macroscopiques des isolats bactériens (A) aspect et couleur des colonies sur milieu M17agar, (B) aspect des cultures en bouillon MRS , (C)coques à Gram + Gr x 100,(D)bacille à Gram +Gr x 100.

**Tableau 7 :** Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des 33 bactéries lactiques isolées

Isolat	Caractéristiques macroscopiques		Caractéristiques microscopiques				
	Aspect et couleur des colonies	Aspect de la culture en bouillon	Aspect des cellules	Type de paroi	Mode de regroupement	Test de catalase	Mobilité
<b>BL1</b>	Crémeuse .plate	Trouble léger + petit culot	Bacille	+	Isolé, en paires, en chaîne	-	-
<b>BL2</b>	Blanche, bombée	Trouble léger + petit culot	Cocci	+	Diplocoque	-	-
<b>BL3</b>	Crémeuse, petit	Trouble intense + culot moyen	Bacille	+	En chaîne	-	-
<b>BL4</b>	Blanche, petit	Trouble léger + culot petit	Cocobacille	+	Isolé	-	-
<b>BL5</b>	Crémeuse, petit	Trouble clair +absence de culot	Bacille	+	En chaîne	-	-
<b>BL6</b>	Blanche, grand	Trouble intense + culot petit	Cocobacille	+	Chainettes / paires	-	-
<b>BL7</b>	Crémeuse, petit	Trouble léger + petit culot	Bacille	+	Isolé	-	-
<b>BL8</b>	Blanche, plate	trouble léger + culot moyen	Bacille	+	Isolé, en paires, en chaîne	-	-
<b>BL9</b>	Crémeuse, plate	Trouble clair + petit culot	Cocci	+	des chaînes ou des paires	-	-
<b>BL10</b>	Crémeuse, grand	Trouble clair + absence de culot	Bacille	+	Isolé	-	-
<b>BL11</b>	Crémeuse, plate	Trouble clair + absence de culot	Cocobacille	+	En paire	-	-
<b>BL12</b>	Blanche, petit	Trouble léger + petit culot	Cocci	+	Tétrade	-	-
<b>BL13</b>	Crémeuse, bombée	Trouble clair + absence de culot	Bacille	+	En paires, en chaîne	-	-
<b>BL14</b>	Crémeuse, petit	Trouble intense + petit culot	Bacille	+	Longue bacille séparée	-	-

<b>BL15</b>	Blanche, plate	Trouble intense +petit culot	Cocobacille	+	Chainettes / paires	-	-
<b>BL16</b>	Crémeuse, petit	Trouble léger+ culot petit	Bacille	+	Isolé, en paires	-	-
<b>BL17</b>	Blanche, petite	Trouble clair + très petit culot	Bacille	+	Isolé, en chaine	-	-
<b>BL18</b>	Crémeuse. Bombée	Trouble léger + culot petit	Bacille	+	Isolé, en chaine	-	-
<b>BL19</b>	Crémeuse, petit	Trouble intense +culot moyen	Cocobacille	+	En chaine	-	-
<b>BL20</b>	Blanche, petit	Trouble intense +culot petit	Cocobacille	+	Isolé, des chaînes ou des paires	-	-
<b>BL21</b>	Crémeuse, petit	Trouble intense +culot moyen	Bacille	+	En chaine	-	-
<b>BL22</b>	Crémeuse, petit	Trouble clair + culot moyen	Bacille	+	Isolé, des chaînes ou des paires	-	-
<b>BL23</b>	Blanche, petite	Trouble clair + culot petit	Cocci	+	Isolé, en paires, en chaine	-	-
<b>BL24</b>	Crémeuse, plate	Trouble intense + culot moyen	Cocci	+	des chaînes ou des paires	-	-
<b>BL25</b>	Crémeuse, grand	Trouble clair + petit culot	Cocci	+	des paires	-	-
<b>BL26</b>	Crémeuse, grand	Trouble intense + culot moyen	Bacille	+	Isolé, Chainettes	-	-
<b>BL27</b>	Crémeuse, plate	Trouble intense + petit culot	Bacille	+	En paire	-	-
<b>BL28</b>	Blanche, petit	Trouble léger + très petit culot	Bacille	+	Tétrade, Chainettes	-	-
<b>BL29</b>	Crémeuse, plate	Trouble intense + culot moyen	Bacille	+	En paires, en chaine	-	-
<b>BL30</b>	Blanche, plate	Trouble clair + très petit culot	Bacille	+	Longue bacille séparée	-	-
<b>BL31</b>	Crémeuse, petit	Trouble intense +culot moyen	Cocci	+	Chainettes / paires	-	-
<b>BL32</b>	Crémeuse, petit	Trouble clair + petit culot	Bacille	+	Isolé, en paires	-	-
<b>BL33</b>	Blanche, plate	Trouble clair +culot moyen	Cocobacille	+	Isolé	-	-

Suit de **Tableau** : Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des 33 bactéries lactiques isolées

4. Identification partielle des isolats sélectionnés

10 isolats sur les 33 présélectionnés sont retenus pour l’identification partielle. Les résultats de la caractérisation biochimique sont résumés dans le tableau 8.

Tableau 8 : Caractéristiques biochimiques des 10 isolats

Isolat	CO <sub>2</sub>	Croissance à		NaCl		Croissance à pH		Test mobilité	
		10°C	45°C	6.5%	18%	4.4	9.6	Mannitol	Mobilité
BL1(BL2)	+	+	-	-	-	-	-	-	-
BL2(BL3)	-	-	-	+	-	+	-	+	-
BL3(BL4)	+	+	-	+	-	+	-	-	-
BL4(BL14)	-	-	+	-	-	+	-	+	-
BL5(BL15)	+	+	-	+	-	+	-	+	-
BL6(BL16)	-	+	-	+	-	+	-	+	-
BL7(BL23)	-	+	+	+	-	+	+	+	-
BL8(BL24)	+	+	-	+	-	+	-	+	-
BL9(BL31)	-	-	+	-	-	-	-	+	-
BL10(BL32)	+	+	+	+	-	+	-	+	-

+ : test positif; - : test négatif

Les tests de caractérisations préliminaires ont révélé que tous les isolats sont Gram positif et catalase négative apparaissant sous différentes formes avec différents modes d’associations. Ils sont répartis en 19 bacilles, 7 coques et 7 coccobacilles.

En se basant sur les différentes caractéristiques des bactéries lactiques mentionnées par Axelsson (2005), et en les comparant avec les résultats des tests de la caractérisation partielle, nos résultats montrent que les 10 isolats appartiennent à six genres des bactéries lactiques. La répartition est présentée dans le tableau 9.

Tableau9 : Identification partielle des 10 isolats.

Genre	<i>Lactobacillus.sp</i>	<i>Enterococcus.sp</i>	<i>Lactococcus.sp</i>	<i>Leuconostoc.sp</i>	<i>Streptococcus.sp</i>	<i>Weissella.sp</i>
Isolat	BL2 BL4 BL10 BL6	BL7	BL1	BL5 BL3	BL9	BL8

Ces résultats sont en accord avec des études sur la flore lactique du fromage blanc traditionnel Jben du Maroc où les *Lactobacilles* sont décrits comme étant les plus dominants dans ce type de fromage traditionnels (Ouadghiri, 2009). Mahamedi (2015) a rapporté que la microflore dominante de la Klila algérienne comprend les genres *Leuconostoc*, *Enterococcus*,

*Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus* et *Weissella*. Dans une autre étude sur le fromage traditionnel Jben, **Hamama (1997)** a montré que la microflore dominante du *Jben* appartient aux genres *Lactococcus*, *Leuconostoc* et *Lactobacillus*. Notre identification partielle des 10 isolats concorde également avec les genres lactiques décrits dans les fromages *Bouhazza*, *Jben* et *Klila* où les genres de *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* et *Weissella* sont fréquemment isolés à partir de ces fromages traditionnels (**Ouadghiri, 2009 ; Mahamedi, 2015 ; Hamama, 1997 ; Aissauoi, 2014**).

### 5. L'activité antifongique

10 isolats sont testés les 2 cibles fongiques. L'ensemble des résultats de l'activité antifongique est résumé dans le tableau 10 et les figures 13 et 14.

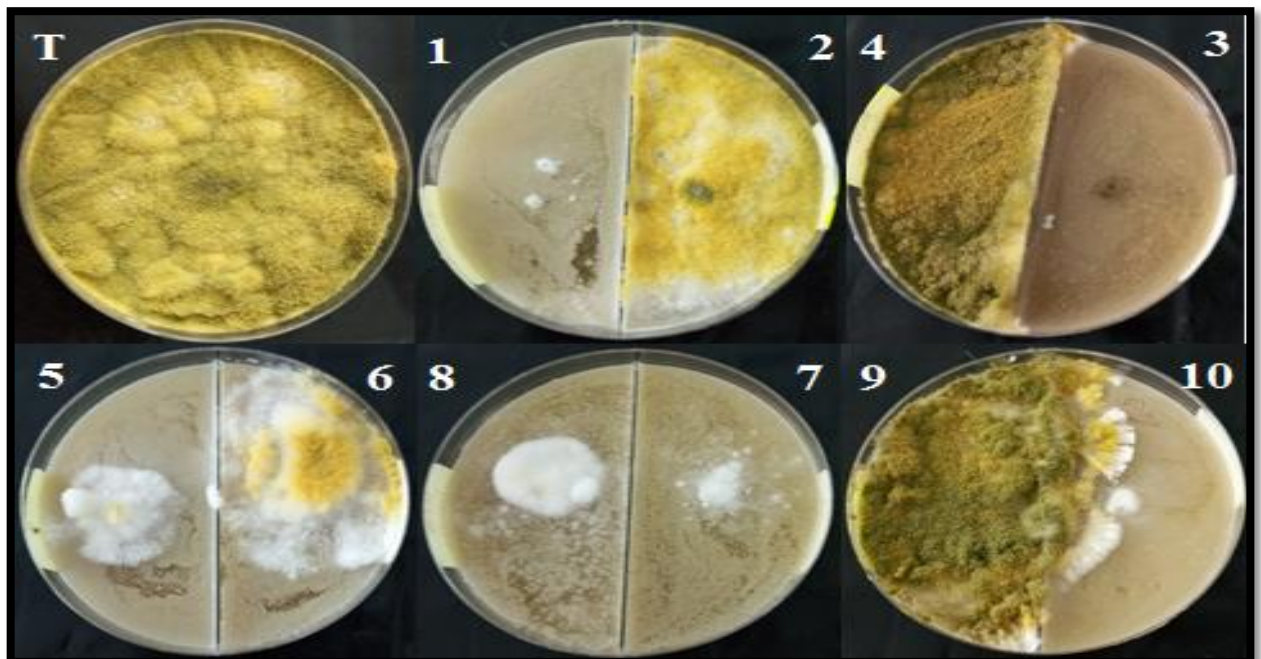
**Tableau 10:** Activité antifongiques des 10 isolats.

Isolats	Identification	Souches tests	
		<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>
BL1 <sub>(BL2)</sub>	<i>Lactococcus.sp</i>	++	++
BL2 <sub>(BL3)</sub>	<i>Lactobacillus.sp</i>	+	++
BL3 <sub>(BL4)</sub>	<i>Leuconostoc.sp</i>	++	++
BL4 <sub>(BL14)</sub>	<i>Lactobacillus.sp</i>	-	-
BL5 <sub>(BL15)</sub>	<i>Leuconostoc.sp</i>	+	++
BL6 <sub>(BL16)</sub>	<i>Lactobacillus.sp</i>	+	+
BL7 <sub>(BL23)</sub>	<i>Enterococcus.sp</i>	+	++
BL8 <sub>(BL24)</sub>	<i>Weissella.sp</i>	+	++
BL9 <sub>(BL31)</sub>	<i>Streptococcus.sp</i>	-	+
BL10 <sub>(BL32)</sub>	<i>Lactobacillus.sp</i>	+	++

(-), pas d'inhibition, (+), inhibition partielle, (++) , inhibition totale

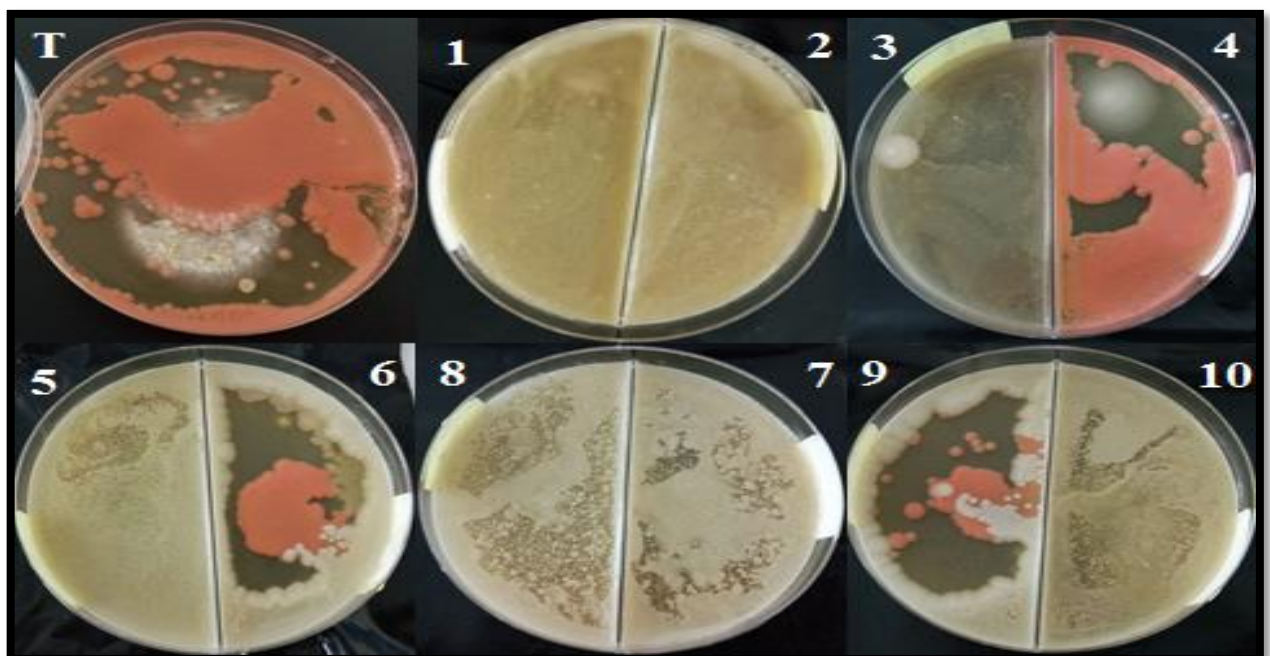
Huit BL sur 10, ont montré un antagonisme contre le champignon testé *Aspergillus flavus*. Les isolats BL2, BL5, BL6, BL7, BL8 et BL10 ont inhibé partiellement la croissance de ce champignon. **Yousef, et al., (2007)** et **Belal et al., (2011)**, ont rapporté des résultats similaires aux notre. Ils ont trouvé que des isolats du genre *Lactobacillus* possédaient une activité contre *Aspergillus flavus*. Nos résultats montrent également un spectre considérable d'activité antifongique contre *Rhodotorula mucilaginosa* particulièrement chez les isolats BL1, BL2, BL3, BL5, BL7, BL8 et BL10, alors que l'isolat BL4 n'a montré aucun antagonisme vis à vis la levure

cible. Les BL exercent un antagonisme par la production de substances antifongiques, largement démontrée dans de nombreux travaux de recherche (Mandal *et al.*, 2013; Crowley *et al.*, 2013).



T : Témoin, 1 : BL1, 2 : BL2, 3 : BL3, 4 : BL4, 5 : BL5, 6 : BL6, 7 : BL7, 8 : BL8, 9 : BL9, 10 : BL1.

Figure 13 : Antagonisme vis à vis d'*Aspergillus flavus*.



T : Témoin, 1 : BL1, 2 : BL2, 3 : BL3, 4 : BL4, 5 : BL5, 6 : BL6, 7 : BL7, 8 : BL8, 9 : BL9, 10 : BL1.

Figure 14 : Antagonisme vis à vis *Rhodotorula mucilaginosa*.

# *CONCLUSION ET PERSPECTIVES*

L'objectif principal de notre travail est l'isolement et la caractérisation des bactéries lactiques à partir de fromage traditionnels *Klila* et de tester leur antagonisme vis à vis des souches fongiques impliquée dans l'altération des produits laitiers.

Cette étude est entamée par une enquête au niveau de 6 communes des wilayas de Khenchela et Oum El Bouaghi afin de rassembler la maximum information sur ce produit et de construire un diagramme de fabrication de ce fromage local.

Cette étude nous a permis d'avoir une idée générale sur la composition microbiologique que ce soit de la flore lactique ou de la FTAM de ce produit laitier traditionnel *Klila*. Les résultats obtenus indiquent que notre produit à une bonne qualité marchande et les BL sont dominantes dans tous les échantillons.

Les tests macroscopiques et microscopiques réalisés sur la flore lactique du fromage *Klila*, nous ont permis de sélectionner 33 isolats, présentant des caractéristiques identiques aux BL . 10 isolats sur les 33 présélectionnés sont maintenus pour l'identification et la caractérisation proportionnelle en utilisant différents test phénotypiques et biochimiques. Les 10 isolats de bactéries lactiques provenant de *Klila* présente une grande diversité représentée par les genres: *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Weissella*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* et *Enterococcus*.

L'étude de l'activité antifongique des 10 isolats sélectionnés, contre 2 souches fongiques *Aspergillus flavus* et *Rhodotorulamucilaginosa* a montré que les BL1 et BL 3 sur les 10 isolats ont la capacité d'inhiber totalement la croissance d'*Aspergillus flavus*. Alors que les isolats BL2, BL5, BL6, BL7, BL8 et BL10 peuvent inhiber partiellement la croissance de ce champignon. L'activité antifongique contre *Rhodotorula mucilaginosa* est observée surtout chez les isolats BL1, BL2, BL3, BL5, BL7, BL8 et BL10 qui sont exprimés par une inhibition totale de la croissance, alors que BL6 et BL 9 montrent une inhibition partielle de la croissance de cette levure.

Nous espérons donner suites à ces travaux afin de :

- compléter l'identification génotypique des souches de bactéries lactiques isolées et identifiées par méthode classique ;
- identifier les substances antifongiques ;
- étudier l'aptitude technologique de nos isolats ;
- étudier de leur résistance aux antibiotiques.

*REFERENCES*  
*BIBLIOGRAPHIQUES*

### A

**ABDELAZIZ, S. and AIT KACI, F. (1992).** Contribution à l'étude physico-chimique et microbiologique d'un fromage traditionnel algérien fabriqué à partir du lait de chèvre le "Djben". Mémoire d'ingénieur d'état en agronomie. Institut national agronomique d'El Harrach, Alger. 67 p.

**AISSAOUI, Z. (2006).** Le fromage traditionnel algérien « bouhezza». Séminaire d'animation régional. "Technologies douces et procédés de séparation au service de la qualité et de l'innocuité des aliments", INSAT-Tunis (communication orale), Tunisie/27-28-29 novembre Actes des sommaires p 118 à 124.

**AISSAOUI, Z.O. (2014).** Fabrication et caractéristique d'un fromage traditionnel Algérien "Bouhezza". Thèse de Doctorat INATAA. Constantine.

**AMATAYAKUL, T., HALMOS, A.L., SHERKAT, F & SHAH, N.P. (2006).** Physical characteristics of yoghurts made using exopolysaccharide-producing starter cultures and varying casein to whey protein ratios. International Dairy Journal.16 : 40-51.

**AMELLAL, R. (1995).** La filière lait en Algérie : entre l'objectif de la sécurité alimentaire et la réalité de la dépendance. CIHEAM - Options Méditerranéennes, Série B 14 :230-238.

**AMMOR, M.S. (2004).** Ecosystème microbien d'un atelier fermier de salaison : Identification et propriétés des bactéries lactiques. Doctoral dissertation, Agrocampus-Ecole nationale supérieure d'agronomie de rennes).

**AMMOR, S., TAUVERON, G., DUFOUR, E & CHEVALLIER, I. (2006).** Antibacterial activity of lactic acid bacteria. against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility: Screening and characterization of the antibacterial compounds. Food control 17: 454-461.

**ANNIKA, M.M and MARC, B. (2004).** Industrial use and production of lactic acid bacteria. FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY-NEW. Ed YORK-MARCEL DEKKER 139: 175-198.

**ATTALLAH, A and BELYAGOUBI, L. (2003).** Isolement et caractérisation de souches de *Listeria* dans le lait cru provenant de différentes régions de l'Ouest Algérien au niveau de la

réception de G. P.I. Lait de Tlemcen. Mémoire d'ingénieur, Institut de Biologie, Université de Tlemcen. 63 pages.

**AXELSSON, L. (2005)** Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology. In Lactic acid bacteria, Microbiological and Functional Aspects Third Edition, Revised and Expanded. Marcel Dekker, New York.

### **B**

**BADIS, A., GUETARNI, D., KIHAL, M & OUZROUT, R. (2005).**Caractérisation phénotypique des Bactéries lactiques isolées à partir de lait de chèvre de deux populations locales "Arabia et Kabyle». Science &Technologie 23 : 30-37.

**BADIS, A., GUETARNI, D., MOUSSA-BOUDJEMAA, B., HENNI, D.E., TORNADIJO, M.E & KIHAL, M. (2004).** Identification of cultivable lactic acid bacteria isolated from Algerian raw goat's milk and evaluation of their technological properties. Food Microbiology 21 : 343–349.

**BADIS, A., LAOUABDIA-SELLAMI, N., GUETARNI, D., KIHAL, M & OUZROUT, R. (2005).** Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales «Arabia et Kabyle». Sciences & Technologie C 23 : 30-37.

**BEAL, C. and SODINI, I. (2012).** Fabrication des yaourts et des laits fermentés, Techniques de l'Ingénieur f6315, Paris France, 16 p.

**BEAL, C., MARIN, M., FONTAINE, E., FONSECA, F & OBERT, J.P. (2008).** Production et conservation des ferments lactiques et probiotiques. Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments. Technique & Documentation, Lavoisier, Paris, France, p. 661-765.

**BELAL, J. M and ZAITON, H. (2011).** Department of Science and technology. University Sains Islam Malaysia Bandar Baru Nilai, 71800 Nilai Negeri Sembilan, Malaysia. American Journal of Applied Sciences 8 (5): 447-451, 2011.

**BELYAGOUBI, L and ABDELOUAHID, D.E. (2013).** Isolation, identification and antibacterial activity of lactic acid bacteria from traditional algerian dairy products. *Advances in Food Sciences* 35:84- 85

- BENKERROUM, N and TAMIME A. Y. (2004).** Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (*lben, jben and smen*) to small industrial scale. *Food. Microbiology.* 21: 399–314.
- BENKERROUM, N. (2013).** Traditional Fermented Foods of North African Countries: Technology and Food Safety Challenges With Regard to Microbiological Risks. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 12: 54 - 89.
- BETTACHE, G., ADJOUDJ, F., HADADJI, M & KIHAL, M. (2012).** Isolation and identification of Lactic Acid Bacteria from *Dhan*, a traditional Butter and their major technological traits, *world applied sciences journal* 17(4) pp :480-488.
- BONNEFOY, C., GUILLET, F., LEYRAL, G & VERNE, B.E. (2002)** .Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaires. Doin, Rueil Malmaison; Bordeaux.
- BOUBEKRI, C., TANTAOUI, E., BERRADA, M & BENKERROUM, N. (1986).** Caractérisation physico-chimique du *Lben* marocain *Le Lait*, INRA Editions, 1984, 64 (643-644), pp.436-447.
- BOUBEKRI, K and OHTA Y., (1996).** Identification of lactic acid bacteria from Algerian traditional cheese, El-Klila. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 70: 501-505.
- BOUDJEMA, K. (2008).** Essai d'optimisation de la production d'acide lactique sur lactosérum par *Streptococcus thermophilus*. Mémoire de magister. Université de M'hamed Bougara Boumerdes : pp 5-19.
- BOUMEHIRA, A.Z. (2010).** Identification et caractérisation technologique et fonctionnelle des souches *Lactobacillus plantarum* isolées du lait cru de chèvre et de chamelle. Thèse de doctorat. Université Ahmed Ben Bella d'Oran1 Es Senia.
- BOURGEOIS, C.M and LARPENT, J.P. (1996).** Microbiologie alimentaire : Aliments fermentés et fermentations alimentaires. Technique & Documentation, Lavoisier. Paris. 432 704.
- BOURGEOIS, C.M., MESCLE J.L & ZUCCA J. (1996).** Microbiologie Alimentaire. Tome 1. 2ème édition. Lavoisier, Paris.
- BRUL, S and COOTE, P. (1999).** Preservative agent in food: Mode of action microbial resistance mechanisms. *International journal of Food Microbiology* 50: 1-17.

**C**

- CALLEWAERT, R and DE VUYST, L. (2000).** Bacteriocin production with *Lactobacillus amylovorus* DCE 471 is improved and stabilized by fed batch fermentation. Applied and environmental microbiology 66: 606-613.
- CANQUIL, N., VILLARROEL, M., BRAVO, S., RUBILAR, M & SHENE, C. (2007).** Behavior of the rheological parameters of exopolysaccharides synthesized by three lactic acid bacteria. Carbohydrate Polymers 68: 270-279.
- CAPLICE, E and FITZGERALD, G. (1999).** Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. International journal of food microbiology 50: 131-149.
- CARMEN, M., JAN KOK, E. H., PELAEZ, C., REQUENA, T & BUIST, G. (2000).** Applied and Environmental Microbiologie. pp. 3174-3179.
- CARR, F.J., CHILI, D & MAIDA, N., (2002).** The Lactic Acid Bacteria: A Literature Survey. Critical Rev. Microbiology 28: 281-370.
- CASABURI, A., ARISTOY, M.C., CAVELLA S., ERCOLINI, D., TOLDRA, F & VILLANI, F. (2007).** Biochemical and sensory characteristics of traditional fermented sausages of Vallo di Diano (Southern Italy) as affected by the use of starter cultures. Meat Science 76 : 295-307.
- CELINE, L. L., JEROME, M., VALERIE, V., AMELIE, W., GWENAËLLE, L. B., GEORGES, B & Emmanuel, C. (2016).** In vitro and in situ screening of lactic acid bacteria and propionibacteria antifungal activities against bakery product spoilage molds. Food Control 60 : 247 – 255.
- CHAHBAL, M. (1993).** Isolation and characterization of acidocin A and cloning of the acteriocin gene from *Lactobacillus acidophilus*. Applied and environmental microbiology 61: 1061 1067.
- CHAHBAL, M. (1991).** Antimicrobial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meatus. Applied and environmental microbiology 55: 1901-1906.

**CHERIGUENE, A., CHOUGRANI, F., BEKADA, A.M.A., EL SODA, M & BENSOLTANE, A. (2007).** Enumeration and identification of lactic microflora in Algerian goat's milk. In African Journal of Biotechnology Vol. 6 (15), PP. 1854-1861.

**CHOLET, O. (2006).** Etude de l'écosystème fromager par une approche biochimique et moléculaire. Institut National Agronomique Paris-Grignon. Ecole Doctorale ABIES. UMR de Génie et Microbiologie des Procédés Alimentaires INRA, INA.16.

**COGAN, T. M. 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.

**CORRIEU, G and LUQUET, F.M. (2008).** Bactéries lactiques : De la génétique aux ferments (Coll, Sciences et techniques agroalimentaires). Paris. France: Lavoisier, Technique & Documentation.

**CROWLEY, S., J. MAHONY & VAN SINDEREN, D. (2013).** Current perspectives on antifungal lactic acid bacteria as natural bio-preservatives. Trends in Food Science Technology 33: 93–109.

### *D*

**DACOSTA, Y. (2000).** La bio conservation des aliments. L'antagonisme microbien au service de la sécurité et de la qualité microbiologiques. Paris : Yves Dacosta, p. 196.

**DE ROISSART, H and LUQUET F.M. (1994).** Bactéries lactiques. Aspects fondamentaux et appliqués, Vol 1. Lorica (ed). Uriage/ France.

**DELARRAS, C. (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire : Aliments, produits cosmétiques, eaux, produits.

**DESMAZEAUD, M. J., DE ROISSART, H & OISSARD, H. (1992).** Métabolisme général des bactéries lactiques, Bactéries lactiques, aspects fondamentaux et technologiques. *Ed. Lorica Uriage*. 1: pp 169 -207.

**DHARAM, P and NARENDER, R. P. 2007.** Indian traditional dairy products: an overview. International Conference on Traditional Dairy Foods. Institute, Karnal from November (pp. 14-17).

**DORTU, C. and THONART, P. (2009).** Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 13 : 143-154.

**DROUAULT, S., and CORTHER, G. (2000).** Health effects of lactic acid bacteria ingested in fermented milk. *Veterinary research* 32: 101-117.

**DURLU, Ö. F., ASLIM, B & TAHA-OZKAYA, M. (2007).** Effect of exopolysaccharides (EPSs) produced by *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* strains to bacteriophage and nisin sensitivity of the bacteria. *LWT - Food Science and Technology* 40: 564-568.

### *E*

**EL-GHAISH, S., AHMADOVA, A., HADJI-SFAXI, I., EL-MECHERFI, K.E., BAZUKYAN, I., CHOISSET, I., RABESONA, H., SITOHY, M., POPOV, Y. G., KULIEV, A. A., MOZZI, F., CHOBERT, J. M & HAERTLÉ, T. (2011).** Potential use of lactic bacteria for reduction of allergenicity and for longer conservation of fermented foods. *Trends in Food science and technology* 22: 509-516.

**EL-ZINEY, M.G., UYTTENDAELE, M., DEBEVERE & JAKOBSEN, M. (1998).** Characterization of growth and metabolite production of *Lb. reuteri* during glucose/glycerol cofermentation in batch and continuous cultures. *Biotechnology Letters* 20: 913-916.

### *F*

**FALAGAS, M.E., BETSI G.I & ATHANASIOU S. (2006).** Probiotics for prevention of recurrent vulvovaginal candidiasis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 58: 266-272.

**FARBER, J.M. (1991).** Microbiological aspects of modified-atmosphere packaging technology: a review. *Journal of Food Protection* 54: 58-70.

**FEDERIGHI, M. (2005).** Bactériologie alimentaire compendium d'hygiène des aliments. 2 éditions. Economica. Paris: pp 224-233.

**FIELD , C.B. (2007).** in construction of a new shuttle vector and its use for cloning AND expression of two plasmide encoded bacteriocins from *Lactobacillus paracasei* subsp *paracasei* BGSJ2-8. *International journal of Food Microbiology*.

**G**

**GERRIT, S., BART, A.S & WIM J.M.E. (2005).** Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. *FEMS. Microbiology. Reviews* **29**: 591-610.

**GEVERS, D. (2002).** Tetracycline resistance in lactic acid bacteria isolated from fermented dry sausages. Thèse Doctorat. Universités Ghent. Faculté de Science Ghent. Belgique.

**GILLIS, G.C. 1997.** Définition du fromage en normalisation. In: Eck A., Gillis G.C. (Eds). *Le fromage. Technique & documentation*. Paris, pp 846-849.

**GUIRAUD, J.P. (1998).** Microbiologie alimentaire. Microbiologie des principaux produits laitiers. Ed Dunod, Paris. 65.

**GUIRAUD, J.P. (2003).** Microbiologie alimentaire. Technique et ingénierie, Paris : Dunod, série Agro-alimentaire, p. 387-433.

**H**

**HAMAMA, A. (1997).** Improvements of the manufacture of traditional fermented products in Morocco: case of *Jben* (Moroccan traditional fresh cheese). *Emerging Technology Series—Food Processing Technologies for Africa*. UNIDO, Vienna, 85-102.

**HARRATI, E. 1974.** Recherches sur le *Lben* et la *Klila* algériens. Thèse de doctorat desprcialité, U.E.R. Sciences de la Vie, Université de Caen, France.

**HELLAL, A. 2001.** Fromages traditionnels Algériens. Quel avenir? *Revue Agro-ligne* n° : 14, Avril-Mai, pp 45-47.

**HO, T.N.T. (2008).** Étude de la flore lactique du Nem Chua, produit carné fermenté cru traditionnel du sud Vietnam et maîtrise du processus de fermentation par ajout de souches lactiques sélectionnées spécifiques du produit. Thèse de Doctorat en Sciences des Aliments et Nutrition. Université Bordeaux 1. France. p 182.

**HOLZAPFEL, W.H., HABERER,P.,GEISEN, R., BJÖRKROTH, J & SCHILLINGER, U. (2001).** Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *The American journal of clinical nutrition* **73**: 365S–73S.

*J*

**JEANTET, R., CROGUENNEC, T., MAHAUT, M., SCHUCK, P & BRULÉ G. (2008).** Les produits laitiers 2e édition, Editions Technique & Documentation, Paris. p 23.

**JEROME, J. P., JAMES, T. S & STEPHEN, L. (2004).** Microbiologie. Ed. Dunod. Paris. P 479.

**JOHNSON, M. E and STEELE, J. L. (2001).** Fermented dairy products. Dans Food microbiology : fundamentals and frontiers, 651 -664. Édité par M. P. Doyle, L. R. Beuchat & T. J. Montville. Washington: ASM Press.

*K*

**KACEM, M., KARAM, N.E. (2006).** Physicochemical and microbiological study of “shmen”, a traditional butter made from camel milk in the Sahara (Algeria): isolation and identification of lactic acid bacteria and yeasts. *Grasas y Aceites*, 57, 198–204.

**KACI, M and SASSI Y. (2007).** Industrie laitière et des corps gras, Recueil des fiches sous sectorielles. EDPme. 44 P.

**KANDLER, O., and WEISS, N. (1986).** Genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, 212AL. In: Sneath, P. H. A., Mair, N. S., Sharpe, M. E., and Holt, J. G. (Eds). *Bergey's manual of systematic bacteriology* (8nd ed.). Baltimor. USA pp 208-1234.

**KLAENHAMMER, T.R. (1988).** Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Biochimie* 70 : 337-349.

**KRIEG, N.R. (2001).** The Archaea and the deeply branching and phototrophic bacteria - Identification of procaryotes. In *Bergey's Manual of systematic Bacteriology*. Garrity G. M., Boone D. R., Castenholz R. W. Williams and Wilkins, Baltimore. 2001, 721, 33 - 38.

*L*

**LABIOUI, H., ELMOUALDI, L., EL YACHIOUI, M & OUHSSINE, M. (2005).** Sélection de souches de bactéries lactiques antibactériennes. *Bulletin-Societe de pharmacie de Bordeaux* 144 : 237-250.

**LARPENT, J.P. (1991).** Les ferments bactériens. Dans : Les ferments microbiens dans les industries agro-alimentaires (Produits laitiers et carnés). Actualités Scientifiques et Techniques en Industrie Agro-alimentaire, Editeur APRIA. Paris. pp: 3-117.

**LEHNINGER, A.L. (1979).** Biochimie ; Flammarion Médecine Science. France.

**LEKSIR, C and CHEMMAM, M. (2015).** Contribution à la caractérisation du *Klila*, un fromage traditionnel de l'est de l'Algérie. Livestock Research for Rural Development.

**LEMOUCHI, L. (2008).** Le fromage traditionnel *Bouhezza* : enquête dans la wilaya de Tébessa et suivie de l'évolution des caractéristiques physico-chimiques de deux fabrications. Mémoire d'ingénieur, INATAA, Constantine, Algérie. p 65.

**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.

**LIANZHONG, A., ZHANG, H., GUO, B., CHEN, W., WU, Z and WU, Y. (2008).** Preparation, partial characterization and bioactivity of exopolysaccharides from *Lactobacillus casei* LC2W. Carbohydrate Polymers 74: 353-357.

**LUDWIG, W., SCHLEIFER, K.H & WHITMAN, W.B. (2008).** Bergey's taxonomic outlines. Revised Road Map to the Phylum Firmicutes. 2008, vol. 3. Disponible sur [http://www.bergeys.org/outlines/Bergeys\\_Vol\\_3\\_Outline.Pdf](http://www.bergeys.org/outlines/Bergeys_Vol_3_Outline.Pdf).

## M

**MACEDO, M.G., LACROIX, C., GARDNER, N.J & CHAMPAGNE, C.P. (2002).** Effect of medium supplementation on exopolysaccharide production by *Lactobacillus rhamnosus* RW-9595M in whey permeate. International Dairy Journal 12: 419- 426.

**MAHAMED, A.D. (2015).** Étude des qualités hygiéniques, physico-chimique et microbiologique des ferments et des beurres traditionnels destinés à la consommation dans différentes régions d'Algérie. Université d'Oran Ahmed Ben Bella. Mémoire diplôme de magister en Biologie.oran.

**MANDAL, V., S.K. SEN & N.C. MANDAL. (2013).** Production and partial characterization of an inducer-dependent novel antifungal compound(s) by *Pediococcus acidilactici* LAB 5. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 93: 2445–2453.

**MARCHAL N., BOURDON J.L & RICHARD CL. (1991).** Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries .3ème Ed., Doin éditeurs, Paris

**MARTH, E. H. and STEELE, J. L. (2001).** Applied dairy microbiology. Marcel Dekker, Inc., New York.

**MATHARA, J.M., SCHILLINGER, U., KUTIMA, P.M., MBUGUA, S.K & HOLZAPFEL W.H. (2004).** Isolation, identification and characterisation of the dominant microorganisms of kule naoto: the Maasai traditional fermented milk in Kenya. *International journal of Food Microbiol* 94: 269-278.

**MENNANE, Z., KHEDID, K., ZINEDINE, A., LAGZOULI, M., OUHSSINE, M & ELYACHIOUI, M. (2007).** Microbial characteristics of *Klila* and *Jben* traditional Moroccan cheese from raw cow's milk. *World Journal of Dairy & Food Sciences* 2: 23–27.

**MKRTCHYAN, H., GIBBONS, S., HEIDELBERGER, S., ZLOH, M & LIMAKI, H.K. (2010).** Purification, characterization and identification of acidocin LCHV, an antimicrobial peptide produced by *Lactobacillus acidophilus* .nv. Er 317/402 strain narine. *International journal of antimicrobial agents* 35: 255-260.

**MOZZI, F., RAYA, R. R & VIGNOLO, G. M. (2010).** New approaches for the study of Lactic Acid Bacteria Biodiversity: A Focus on Meat Ecosystem. *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria: Novel Applications*. Blackwell Publishing. p 251-272.

**MUTHUKUMARASAMY, P and HOLLEY, R.A. (2006)** .Microbiological and sensory quality of dry fermented sausages containing alginate-microencapsulated *Lactobacillus reuteri*. *International Journal of Food Microbiology* 111: 164-169.

## N

**NOUANI, A., DAKO, E., MORSLI, A., BELHAMICHE, N., BELBRAOUE, S., BELLAL, M. M & DADIE, A. (2009).** Characterization of the purified coagulant extracts derived from Artichoke Flowers (*Cynara scolymus*) and from the Fig Tree Latex (*Ficus carica*)

in light of their use in the manufacture of traditional cheeses in Algeria. *Journal of Food Technology* 7: 20-29.

**NOVEL, G. (1993).** Les bactéries lactiques. Dans : Microbiologie industrielle, les microorganismes d'intérêt industriel. Leveau, J.Y, Bouix, M., Technique & Documentation. Lavoisier Paris, pp: 170-374.

### O

**OSMAN, A.O. (1987).** Daity development in Eastern Africa; Proceedings of the IDF seminar on the technology of Sudanese white cheese, 'gibnabayda'. 9—13 March; Nairobi. IDF/FIL Bull. No. 221,1987. p 106-09.

**OTT, R., VIJE, T., TEN-BRINK, B., MONT, B. & KONINGS W.N. (1997).** Energy metabolism In *streptococcus cremoris* during lactose starvation. *Archives of Microbiology*. 141: 348-352.

**OUADGHIRI, M. 2009.** Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses 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.

**OWUSU, K. J., AKABANDA F, NIELSEN D S, TANO-DEBRAH K, GLOVER R L K & JESPERSEN L. (2012).** Identification of lactic acid bacteria isolated during traditional fura processing in Ghana. *Food Microbiology* 32(1): 72–78.

### P

**PIROTTA, M., GUNN J., CHONDROS, P., GROVER, S., O'MALLEY, P., HURLEY, S & GARLAND, S. (2004).** Effect of *Lactobacillus* in preventing post-antibiotic vulvo vaginal candidiasis: a randomised controlled trial. *BMJ*, p. 329-548.

**PRESCOTT, H and KLEIN. R. (2007) .**Microbiologie .2e édition française. P 806

### R

**RHIAT, M., LABIOUI, H., DRIOUICH, A., MENNANE, Z & OUHSSINE M. (2013).** Preparation of the starter Trial production of cheese *Jben*) and *Klila* at laboratory scale. *Food Science and Quality ManagemE* Vol. 13.

**ROSS, R. P., MORGAN, S & HILL, C. (2002).** Preservation and fermentation: past, present and future. *International journal of food microbiology* 79: 3-16.

**RUAS, M. P., ALTING, A.C & ZOON, P. (2005).** Effect of exopolysaccharides and proteolytic activity of *Lactococcus lactis* subsp. *Cremoris* strains on the viscosity and structure of fermented milks. *International Dairy Journal* 15 : 155-164. 12 : 163-171.

### S

**SALMINEN, S., WRIGHT, A. V & OUWEHAND, A. (2004).** Lactic acid bacteria. microbiological and functional aspects. Revised and Expanded Edition. Marcel Dekker. Inc., U.S.A.

**SCHIRCH, V., HOPKINS S., VILLAR, E. & ANGELACCIO, S. (1985).** Serine hydroxymethyltransferase from *Escherichia coli*: purification and properties; *Journal Bacteriology*. 163: 1-7.

**SHAN-NA, L., HAN, Y & ZHI-JIANG, Z. (2011).** Lactic acid bacteria in traditional fermented Chinese foods. *Food Research International*, 44: 643–651.

**SMAOUI, I. (2010).** Purification et Caractérisation de Biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. Doctorat de l'université de Toulouse.

**STACKEBRANDT, E. and TEUBER M. (1988).** Molecular taxonomy and phylogenetic position of lactic acid bacteria. *Biochimie*. 70:317-324.

**STÄUBLE, T.N and RABOUD-SCHÜLE, I. (1999).** Ferments en folie, Fondation Alimentarium Nestlé, Vevey.

**STILES, M.E and HOLZAPFEL ,W. H. (1997).** Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *Inter. Journal of Food Microbiology* 36: 1-29.

**SUTRA, L and FEDERIGHI ,M. (1998).** Manuel de bactériologie alimentaire . polytechnica (Ed.).

### T

**TOPISIROVIC, L., KOJIC, M., FIRA, D., GOLIC, N., STRAHINIC, I & LOZO J. (2006)** Potential of lactic acid bacteria isolated from specific natural niches in food production and

preservation. International Journal of Food Microbiology, vol. 112, 230-235.

**TORTORA, G.J., FUNKE, B.R & CASE C.L. (2003).** Introduction à la microbiologie. Edition durenouveau pédagogique. Canada. p 945.

**TOUATI , K (1990):** Contribution à l'étude microbiologique et physico-chimique d'un fromage artisanal algérien "la *Klila*". Mémoire d'ingénieur, INATAA, Constantine, Algérie, 83 p.

### U

**UEHARA, S., MONDEN, K., NOMOTO, K., SENO, Y., KARIYAMA, R & KUMON, H. (2006).** A pilot study evaluating the safety and effectiveness of *Lactobacillus* vaginal suppositories in patients with recurrent urinary tract infection. International journal of Antimicrobial Agents 28: 30-34.

### V

**VANDAMME, P., POT, B., GILLIS, M., DEVOS, P., KERSTERS, K & SWINGS, J. (1996).** Polyphasic taxonomy, a consensus approach to bacterial systematics. Microbiological reviews 60: 407-438.

**VISESSANGUAN, W., BENJAKUL, S., SMITINONT, T., KITTIKUN, C., THEPKASIKUL, P & PANYA A. (2006).** Changes in microbiological, biochemical and physico-chemical properties of Nham inoculated with different inoculum levels of *Lactobacillus Curvatus*. LWT - Food Science Technology, vol. 39, p. 814-826.

**VOLLENWEIDER, S. (2004)** 3-hydroxypropionaldehyde: applications and perspectives of biotechnological production. Applied Microbiology and Biotechnology 64: 16-27.

### W

**WALLING, E., GINDREAU, E & LONVAUD-FUNEL, A. (2005).** A putative glucan synthase gene *dps* detected in exopolysaccharide-producing *Pediococcus damnosus* and *Oenococcus oeni* strains isolated from wine and cider. International Journal of Food Microbiology 98: 53-62.

**WELMAN, A.D and MADDOX, I.S. (2003),** Exopolysaccharides from lactic acid bacteria, perspectives and challenges. Trends in Biotechnology 21: 269-274.

Y

**YATEEM, A., BALBA, M. T., AL-SURRAYAI, T., AL-MUTAIRI, B & AL-DAHER, R. (2008).** Isolation of lactic acid bacteria with probiotic potential from camel milk. *International journal of Dairy Science* 3: 194-199.

**YILDIZ, F. (2010).** Development and Manufacture of Yogurt and Other Functional Dairy Products, CRC Press, Boca Raton, London, New York.

**YOUSEF, I., HASSAN, LLOYD B & BULLERMAN. (2008).** Food Science and Technology Department, University of Nebraska-Lincoln, 349 Food Industry Complex, Lincoln, USA  
Received 30 October 2006; received in revised form 24 August 2007; accepted 2 November 2007. *International Journal of Food Microbiology* 112–115.

# *Annexes*



## Annexe 1 : Questionnaire

Université Abbes Laghrour –Khenchela-  
Faculté des sciences de la nature et de la vie  
Département : biologie moléculaire et cellulaire

### Questionnaire sur le procédé de fabrication de *Klila* traditionnel

Questionnaire n°:.....

Date: ..... /..... /2017.

Lieu de l'enquête: .....

Dans le cadre de ma mémoire de master, j'effectue une enquête sur les méthodes de fabrication et de conservation traditionnelles de *Klila* Algérien, voulez-vous collaborer à enrichir ce travail en répandant au questionnaire suivant ? Nous vous demandons de bien vouloir répondre à toutes les questions suivantes ; vos réponses seront un élément essentiel à la réussite de cette étude.

#### I. Identité des ménages

-Age: ..... ans

-Sexe : Féminin  Masculin

- Lieu de résidence : Wilaya..... Commune .....

- Région : Urbaine  Rurale

- Etes- vous originaire de la région ? Oui  Non

- Situation professionnelle : .....

- Situation familiale : Célibataire  Marié (e)  Divorcé (e)  Veuf (ve)

Q1 - Connaissez-vous *Klila* traditionnel ? Oui  Non

Q2-Fabriquez-vous ce produit actuellement ? Oui  Non

- Si Non : achetez-vous le *Klila* pré à l'emploi ? Oui  Non

Q3- Quel est le nom de produit selon votre région ?.....

Q4. Utilisez-vous ce produit ? Oui  Non

- Si oui, quel est le type de *Klila*? Chèvre  Vache  Brebis  Camelin  Autre

#### II. Matière première

##### II.1- Origine de la matière première

Q5- Quel est le type de lait utilisé pour sa préparation ?

Cru  Pasteurisé / stérilisé  reconstitué  Autres

Q6-quelle est l'origine de ce lait ?

Lait de vache  lait de brebis  lait de chèvre  lait Camelin

Mélange(Ci )

##### II.2. Préparation de la matière première

Q7 - Quelles sont les conditions de la coagulation de lait ?

- Temps: .....

- Température: .....

Q8- Ajoutez-vous des additifs pour favoriser la coagulation ou la fermentation ? Oui  Non

• Si oui, citez-les? .....

Q9- Quel est l'outil utilisé pour le barattage ? .....

Q10- Quel est le temps de barattage ? .....

Q11- après le barattage la crème est récupérée ? Entièrement  Partiellement

### III. Préparation de *Klila*

Q12- Le *Lben* ainsi obtenu est utilisé directement ? Oui  Non

Q13- Le *Lben* utilisé dans la fabrication est de préférence

Peu acide  Très acide  Quel que soit son acidité

• Pourquoi?.....

Q14- a ce que le *Lben* subir un traitement thermique ? Oui   Non

Q15- après le chauffage de lait qu'à ce que vous obtenu ?

#### III. 2. Processus de fermentation

Q16- La fermentation se déroule dans un récipient en :

Verre  céramique  plastique  Autre

Pourquoi .....

Q17- Fermez-vous le récipient ? Oui  Non

Pourquoi .....

Q18- Quels sont les conditions de fermentation ?

- A l'obscurité  A la lumière

- Pourquoi ? .....

- La durée : .....

- Température : .....

Q19- Quelle est la méthode utilisée pour la récupération de *Klila*?.....

### VI. Mode de conservation de *Klila*

Q20- *Klilase* conserve dans un récipient en :

Verre  céramique  plastique  Autre

Q21- Quelles sont les conditions de conservation ?

- Température: .....

- Temps: .....

- Aération: .....

- Endroit : .....

Q22- Donnez une description du produit prêt à l'utilisation ?

- goût: .....

- couleur: .....

- odeur: .....

Q23- Quelles sont les problèmes rencontrés lors de la préparation et/ou la conservation ?

### V. Mode de consommation de *Klila*

Q24- *Klila* est consommé : Ajouté dans les plats traditionnels Autres

Q25- Le but d'utilisation de *Klila* est :

- Améliorer le goût

- Apporter plus d'arômes

- Améliorer la qualité nutritionnel

- Autre

Q26- Ce produit traditionnel (*Klila*) est-il commercialisé ? Oui  Non

Si, oui par qui ?.....

Voilà à la fin du questionnaire, nous vous remercions d'y avoir répondu.

## Annexe 2

Eau physiologique	
Chlorure de sodium (NaCl)	8,5 g
Eau distillée	1000 mL
Stérilisation : 120°C pendant 15 minutes	

Eau peptonée tamponnée	
Eau physiologique	720 ml
Peptone	7.2g
pH 7,2	
Stérilisation : 120°C pendant 15 minutes	

## Annexe 3

PCA (Plat Count Agar)	
Peptone	5 g
Extrait de levure	2,5 g
Glucose	1 g
Agar	14g
Eau distillée	1000 mL
Stérilisation : 120°C pendant 15 minutes	

## Annexe 4

Gélose M17	
Peptone de soja	5,0 g
Peptone de viande	2,5 g
Peptone de caséine	2,5 g
Extrait de viande	5,0 g
Extrait de levure	2,5 g
Lactose	5,0 g
Acide ascorbique	0,50 g
Glycérophosphate de sodium	19,0 g
Sulfate de magnésium	0,25 g
Gélose	13,0 g
Eau distillée	1000 mL
pH 7,2	
Stérilisation : 120°C pendant 15 minutes	

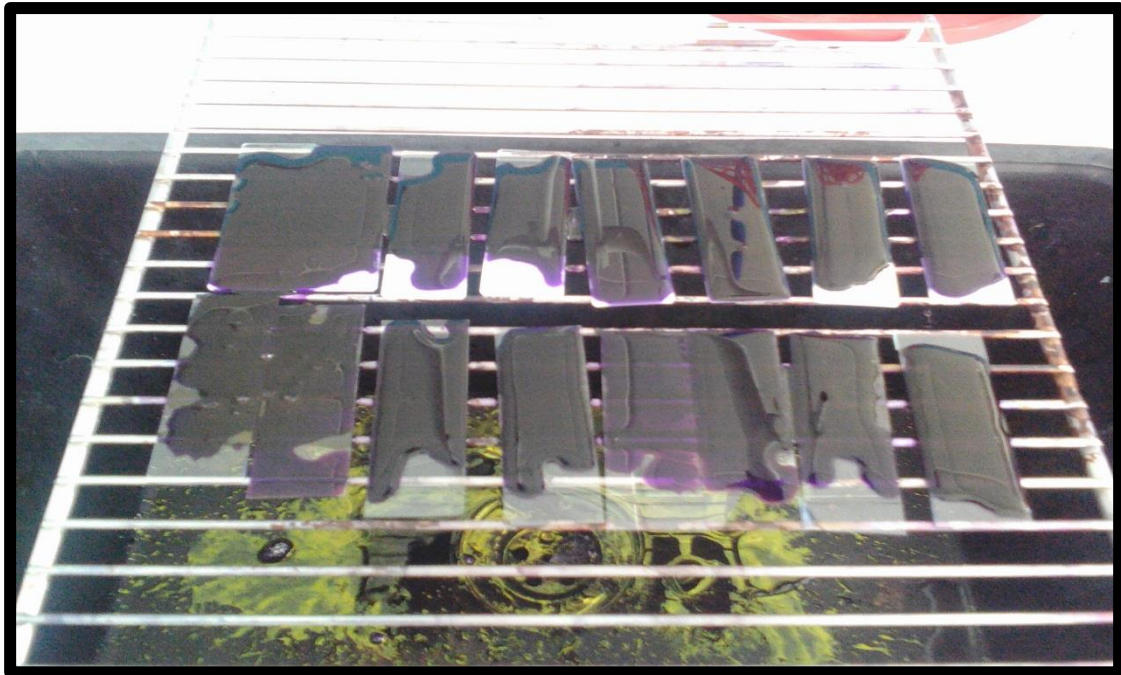
Bouillon MRS	
Peptone	10,0 g
Extrait de viande	10,0 g
Extrait de levure	5,0 g
Glucose	20,0 g
Tween 80	1,0 mL
Phosphate dipotassique	2,0 g
Acétate de sodium	5,0 g
Citrate triammonique	2,0 g
Sulfate de magnésium	200,0 mg
Sulfate de manganèse	50,0 mg
Eau distillée	1000 mL
pH 6,5	
Stérilisation : 120°C pendant 15 minutes	

### Annexe 5: La jarre d'anaérobiose



### Annexe 6: Coloration de Gram

Un frottis fixé à la chaleur est coloré pendant une minute au *violet de cristal*; il est ensuite rincé rapidement à l'eau distillée, traité pendant une minute par une solution de *Lugol*, et de nouveau rincé rapidement à l'eau distillée. On soumet alors le frottis coloré à une étape de décoloration en le traitant avec l'éthanol 95%. Il s'agit de l'étape critique: la lame est maintenue inclinée et on fait couler le solvant sur le frottis pendant 15 à 30 secondes seulement jusqu'à ce que le colorant cesse de s'échapper librement du frottis. Celui-ci est alors immédiatement rincé à l'eau distillée. À ce stade les cellules Gram- seront incolores, les cellules Gram+ violettes. On soumet ensuite le frottis à une contre coloration de 10 à 30 secondes à la *fushine*(ou *safranine*) pour colorer les cellules Gram- présentes. Après un bref rinçage à l'eau distillée, on sèche le frottis au buvard ou au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen et on l'examine à l'objectif (X 100) à immersion. Avec cette coloration double, les bactéries « Gram-positif » apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries « Gram-négatif » sont colorées en rose ou en rouge (**Delarras, 2007**).



Annexe 7

Mannitol-mobilité	
Peptone	10g
Manitol Sel Agar	1g
KNO <sub>3</sub>	0,5 g
Rouge de phénol	2 ml
Agar	2 g
Eau distillée	500mL
Stérilisation : 120°C pendant 15 minutes	

Annexe 8

Gélose WFH wheatflourhydrolysate agar	
Farine	200 g
Extrait de levure	10 g
Gélose	15 g
Maltose	15 g
Fructose	15 g
Saccarose	15 g
Agar	7 g
Eau distillée	1000 mL
pH 5,6	
Stérilisation : 120°C pendant 15 minutes	



# *Résumés*

**Résumé**

En Algérie, la *Klila* est un fromage traditionnel consommé tel qu'il est frais ou après un séchage. Il est utilisé comme un ingrédient pour la préparation des plats traditionnels et d'autre part comme produit probiotique. Les résultats de notre enquête menée pendant la réalisation de ce travail nous ont permis de constater que les régions des *Chaouia*, connaissent et fabriquent le fromage jusqu'à présent.

D'autre part, nous avons confirmé que le diagramme de fabrication est presque le même pour toutes les personnes questionnées. Cette étude nous a permis d'avoir une idée générale sur la composition microbiologique que se soit de la flore lactique ou de la FTAM de ce produit laitier traditionnel *Klila*. Les résultats obtenus indiquent que les échantillons de *Klila* analysés ont bonne qualité marchande et les BL sont dominantes dans tous les échantillons.

L'identification préliminaire, des 10 isolats sélectionnés, basée sur l'étude macroscopique, microscopique ainsi que, les tests biochimiques a révélé que les les isolats appartiennent aux genres *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Weissella*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* et *Enterococcus*. L'étude de l'activité antifongique des 10 isolats sélectionnés, contre 2 souches fongiques *Aspergillus flavus* et *Rhodotorulamucilaginosa* a montré que la majorité des isolats exercent un antagonisme contre les champignons testés.

**Mots clés :** *Klila* - Enquête - Bactérie lactique - Activité antifongique.

**Abstract**

In Algeria, the *Klila* is a traditional cheese consumed as fresh or after drying. It is used as an ingredient for the preparation of traditional dishes and on the other hand as probiotic product. The results of our survey during the realization of this work, have enabled that the regions of Chaouia, know and fabricate cheese until now. Moreover, we confirmed that the diagram of fabrication is almost the same for all people surveyed.

This study allowed us to get a general idea on microbiological composition whether the lactic flora or the FTAM of this dairy traditional product *Klila*. The results obtained indicate that *Klila* analyzed have good market quality and the lactic Bacteria are dominant in all samples.

The preliminary identification of the 10 selected isolates, based on the macroscopic, microscopic study as well as biochemical tests revealed that the isolates belong to the genera; *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Weissella*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* and *Enterococcus*.

The study of the antifungal activity of the the 10 selected isolates, against 2 fungal strains *Aspergillus flavus* and *Rhodotorula mucilaginosa* has shown that the majority of the isolates exert an antagonism against the test fungi.

**Keywords:** *Klila* -Survey -Lactic Bacteria - Antifungal Activity.

## ملخص

في الجزائر، الكلبية هي جبن تقليدي يتم استهلاكها طازجة أو بعد تجفيفها. و تستخدم كمكون لتحضير الأطباق التقليدية من جهة اخرى فهي تعتبر كمنتج علاجي. نتائج التحقيق التي أجري خلال انجاز هذا العمل سمح لنا أن نعرف أن مناطق الشاوية مازالت تعرف وتقوم بتحضير هذا الجبن الى يومنا الحالي.

من ناحية أخرى، تاكدنا ان طريقة تحضير هذا الجبن هي نفسها عند جميع الأشخاص الذين شملهم التحقيق. هذا العمل سمح لنا بالحصول على فكرة عامة عن التكوين الميكروبيولوجية سواء FTAM أو بكتيريا حمض اللاكتيك لهذا المنتج اللبني التقليدي. النتائج المتحصل عليها تشير ان عينات الكلبية التي اجريت عليها الدراسة لديها جودة سوقية عالية و بكتيريا حمض الاكتيك هي الاكثر تواجدا في جميع العينات.

التحديد الأولي للعشرة سلالات المعزولة المتمركز حول الدراسة العيانية والدراسة المجهرية بما في ذلك الاختبارات البيوكيميائية كشفت لنا ان السلالات المعزولة تنتمي الى الاجناس : *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Weissella*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* et *Enterococcus*.

إن دراسة النشاط المضاد الفطري للعشر السلالات المعزولة ضد سلالتين من السلالات الفطرية *Rhodotorula mucilaginosa* و *Aspergillus flavus* اثبتت ان غالبية السلالات المعزولة تمارس نشاط مضاد فطري ضد هذه الاخيرة.

**الكلمات المفتاحية:** كلبية – التحقيق – بكتيريا حمض اللاكتيك - نشاط مضاد فطري.

# ARROUF SOUMIA

Date de soutenance : 20 juin 2017

Diplôme : Master Académique en Biologie

Option : Microbiologie Appliquée

## FROMAGE TRADITIONNEL *KLILA* : CARACTERISATION PARTIELLE DE LA FLORE LACTIQUE ET DE SON ACTIVITE ANTIFONGIQUE

### Résumé

En Algérie, la *Klila* est un fromage traditionnel consommé tel qu'il est frais ou après un séchage. Il est utilisé comme un ingrédient pour la préparation des plats traditionnels et d'autre part comme produit probiotique. Les résultats de notre enquête menée pendant la réalisation de ce travail nous ont permis de constater que les régions des *Chaouia*, connaissent et fabriquent le fromage jusqu'à présent. D'autre part, nous avons confirmé que le diagramme de fabrication est presque le même pour toutes les personnes questionnées. Cette étude nous a permis d'avoir une idée générale sur la composition microbiologique que se soit de la flore lactique ou de la FTAM de ce produit laitier traditionnel *Klila*. Les résultats obtenus indiquent que les échantillons de *Klila* analysés ont bonne qualité marchande et les BL sont dominantes dans tous les échantillons. L'identification préliminaire, des 10 isolats sélectionnés, basée sur l'étude macroscopique, microscopique ainsi que, les tests biochimiques a révélé que les les isolats appartiennent aux genres *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Weissella*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* et *Enterococcus*. L'étude de l'activité antifongique des 10 isolats sélectionnés, contre 2 souches fongiques *Aspergillus flavus* et *Rhodotorula mucilaginosa* a montré que la majorité des isolats exercent un antagonisme contre les champignons testés.

**Mots clés :** *Klila* – Enquête - Bactérie lactique - Activité antifongique.

### Devant le jury :

<b>Président</b>	<b>: THABET Rachid</b>	<b>M.A.A</b>	<b>Univ.Abbes Laghrour-Khanchela</b>
<b>Promotrice</b>	<b>: Dr Merabti Ryma</b>	<b>M.C.B</b>	<b>Univ.Abbes Laghrour-Khanchela</b>
<b>Examinatrice</b>	<b>: KHEDDOUMA Asma</b>	<b>M.A.A</b>	<b>Univ.Abbes Laghrour-Khanchela</b>
<b>Invité</b>	<b>: Leulmi Nassima</b>	<b>M.A.A</b>	<b>Univ.Abbes Laghrour-Khanchela</b>