



République Algérienne Démocratique Et Populaire  
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La  
Recherche Scientifique  
Université Echahid Cheikh Larbi Tébessi -Tébessa-  
Faculté Des Sciences Exactes Et Des Sciences De La  
Nature Et De La Vie  
Département De Biologie Appliquée



Présentée En Vue De L'obtention Du Diplôme de Master (Start-Up)

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Appliquée

Sous Le Thème :

## Production de ferment à base de bactéries lactiques à effet probiotique

Présentée par :

M<sup>lle</sup>. Gasmi Aya    M<sup>lle</sup>. Guehairia Bouthaina    M<sup>me</sup>. Herairia Randa

M<sup>lle</sup>. Saigaa Narimane    M<sup>me</sup>. Tatar Tasnim

Devant le jury composé de :

Mr. Boukoucha Mourad	MCA	Université de Tébessa	Président
Mme Benhadj Mabrouka	MCA	Université de Tébessa	Promotrice
Mlle Metrouh Roumaïssa	Docteur	Université de Tébessa	Co-Promotrice
Mr. Dakak Ahmed	MCA	Université de Tébessa	Examineur
Mr. Nait Cherif Mouhamed	MCB	Université de Tébessa	Directeur d'incubateur
Mme Lamouchi Loubna	Partenaire Socio-économique		
Mr. Hafdhallah Walid	Partenaire Socio-économique		

2022-2023



## Résumé

Les bactéries lactiques, soit en tant que microflore naturelle, soit en tant que culture ajoutée dans des conditions contrôlées, jouent un rôle important dans la transformation et la conservation des aliments. L'objectif de nos travaux est d'isoler des bactéries lactiques à partir de produits fermentés artisanalement et d'étudier leurs capacités biotechniques et probiotiques pour obtenir une collection de souches probiotiques pures et de matériels de fermentation, et par conséquent la production d'un yaourt probiotique en utilisant les ferments lactiques les plus pertinentes dans notre collection.

Dans cette étude, 46 souches de bactéries lactiques ont été isolées à partir de vingt-huit échantillons fermentés traditionnellement de natures végétales et laitières (Mraged, Raib et Bouhezza) prélevés à partir de différentes régions d'Algérie (Tébessa, Souk Ahras, Oum ElBouaghi, Jijel, el-Oued et Biskra). Leur identification est basée sur des tests d'identification phénotypiques. Les propriétés biotechnologiques des isolats (capacités : acidifiantes, protéolytiques, lipolytiques, texturantes et aromatisantes) et le potentiel probiotique (résistance à l'acidité et aux sels biliaries, activité antibactérienne et antifongiques, résistance aux antibiotiques, hydrophobicité, Auto-agrégation et la capacité hémolytiques) ont été étudiés. Après avoir étudié les interactions bactériennes des ferments simples ou mixtes (composés de deux ou trois souches) ont été utilisées dans la production de yaourt.

Des huiles essentielles extraites de la plante « *Sesamum indicum* », du miel et des arômes fruitées ont été ajoutés après la détermination de leur CIF avec les ferments lactiques de préparation pour l'aromatisation et la bio-conservation des yaourts préparés. Un contrôle microbiologique et physico-chimique a été employé pour contrôler le dans le jour de la préparation.

La collection de 46 bactéries lactiques isolées dans cette enquête scientifique sur la base des caractéristiques morphologiques et physiologiques ont été divisé préalablement en trois genres : *Lactobacillus/ Carnobacterium*, *Enterococcus* et *Lactococcus*. Vingt-cinq isolats d'intérêt potentiel ont été sélectionnés en fonction de leur propriété biotechnologique et leur potentiel probiotique. Ils ont été retenus pour la valorisation de quinze levains dont deux souches ont été choisies en fonction des caractéristiques technologique de fabrication du yaourt. Selon les analyses de contrôle physico-chimiques et microbiologiques, le yaourt produit sans ou avec arôme à donner un résultat Satisfaisant avec une innocuité microbiologique.

Une collection de souches de bactéries lactiques qui se distinguent par des capacités biotechnologiques et probiotiques intrigantes a été établie dans notre recherche, qui peut être utilisée dans l'industrie alimentaire.

**Mots clés** : bactéries lactiques, végétaux artisanaux fermentes, propriété biotechnologique, potentiel Probiotique, synergie ferments.

## Abstract

Lactic acid bacteria play a significant role in the transformation and preservation of food, whether they are present naturally as a microflora or added as a culture in controlled environments. Our research aims to obtain a collection of pure probiotic strain and fermentation equipment by isolating lactic acid bacteria from artisanally fermented products and studying their biotechnological and probiotic capabilities. As a result, we will produce a probiotic yaourt using the most appropriate lactic acid bacteria from our collection.

In this study, 46 lactic acid bacteria isolates were made from 28 traditionally fermented samples of plant and dairy products (Mraged, Raib, and Bouhezza) that were collected from various regions of Algeria (Tébessa, Souk Ahras, Oum El-Bouaghi, Jijel, el-Oued, and Biskra). Their identification is based on phenotypic identification tests. The biotechnological characteristics of the isolates, including their capacities for acidification, proteolysis, lipolysis, texturation, and aromatization, as well as their probiotic potential, including their hydrophobicity, auto-aggregation, and hémolyte capacity, have been researched. Yaourt is produced using simple or mixed ferments (composed of two or three souches), which have been used to study bacterial interactions.

In order to flavor and preserve the prepared yogurt' biological integrity, essential oils extracted from the plant "*Sesamum indicum*," molasses, and fruity aromas were added after their CIFs were calculated with the preparation lactic ferments. On the day of preparation, a microbiological and physical-chemical control was used to monitor the ingredient.

On the basis of their morphological and physiological characteristics, the collection of 46 lactic bacteria isolated for this scientific study has been divided into three groups: *Lactobacillus/Carnobacterium*, *Enterococcus*, and *Lactococcus*. Seventy-five potential interest isolates have been chosen based on their biotechnological and probiotic potential. They were chosen for the valuation of ten levains, of which two strains were picked based on the yogurtt's technological manufacturing characteristics. According to physico-chemical and microbiological control analyses, the yogurt produces without or with aroma to give a satisfactory result with a microbiological innocuity.

Our research established a collection of lactic bacteria strains that can be used in industry and stand out for their intrusive biotechnological and probiotic abilities.

**Key words:** lactic acid bacteria, artisanal fermented vegetables, biotechnological property, probiotic potential, synergistic fermentation.

## ملخص

تلعب بكتيريا حمض اللاكتيك دورا مهما في معالجة الأغذية وحفظها، سواء كانت بكتيريا طبيعية أو كثقافة مضافة في ظل ظروف خاضعة للرقابة. الهدف من عملنا هو عزل بكتيريا حمض اللاكتيك عن المنتجات المخمرة يدويا ودراسة قدرتها التقنية الحيوية والبروبيوتيك للحصول على مجموعة من سلالات البروبيوتيك النقية ومواد التخمير، وبالتالي إنتاج اللبن الزبادي بروبيوتيك باستخدام الخميرة اللبنية الأكثر صلة في مجموعتنا.

في هذه الدراسة، تم عزل 46 سلالة من بكتيريا حمض اللاكتيك من ثمانية وعشرين عينة مخمرة تقليديا من الخضراوات وطبيعة منتجات الألبان (الكرابيد، الرايب، بوزهرة) مأخوذة من مناطق مختلفة من الجزائر (تبسة، سوق أهراس، أم البواقي، جيجل، الواد وبسكرة). يعتمد تحديدهم على اختبارات تحديد النمط الظاهري، الخصائص التقنية الحيوية للعزلات (القدرات: التحميض، التحلل للبروتين، التحلل الدهني، التركيب والنكهة) وإمكانات البروبيوتيك (مقاومة الحموضة والأملاح الصفراوية، النشاط المضاد للبكتيريا والفطريات، مقاومة المضادات الحيوية، مقاومة الماء، التجميع الذاتي والقدرة على التحلل للدم) تمت دراستها بعد دراسة التفاعلات البكتيرية، تم استخدام الخميرة البسيطة أو المختلطة (المكونة من سلالتين أو ثلاث سلالات) في إنتاج الزبادي.

مع CIF تمت إضافة الزيوت العطرية المستخرجة من نبات "السوسم الهندي" والعسل ونكهات الفواكه بعد تحديد الخميرة اللبنية تمهيدا لتوابل الزبادي المحضر والحفاظ عليه حيويا، تم استخدام المكافحة الميكروبيولوجية والفيزيائية الكيميائية للسيطرة خلال يوم التحضير.

تم تقسيم مجموعة من 46 بكتيريا حمض اللاكتيك المعزولة في هذا البحث العلمي على أساس الخصائص و Enterococcus و Lactobacillus / Carnobacterium المورفولوجية والفيسيولوجية سابقا إلى ثلاثة أجناس، تم اختيار خمسة وعشرين عزلة ذات أهمية محتملة بناء على خصائصها التكنولوجية الحيوية وإمكاناتها Lactococcus الحيوية. تم اختيارهم لتطوير خمسة عشر نوعا من العجين المخمر، تم اختيار سلالتين منها وفقا للخصائص التكنولوجية لتصنيع الزبادي. وفقا لتحليلات التحكم الفيزيائية والكيميائية والميكروبيولوجية، فإن اللبن المنتج بدون أو براءة لإعطاء نتيجة مرضية مع ضرر ميكروبيولوجي.

تم إنشاء مجموعة من سلالات بكتيريا حمض اللاكتيك التي تتميز بقدرات التكنولوجيا الحيوية والبروبيوتيك المثيرة للاهتمام في بحثنا، والتي يمكن استخدامها في صناعة الأغذية.

### الكلمات المفتاحية:

بكتيريا حمض اللاكتيك، بكتيريا حرفية مخمرة، خاصية التكنولوجيا الحيوية، إمكانات البروبيوتيك، تأزر التخمير.

# *Remercîments*

*Tout d'abord, nous remercions le Tout-Puissant - Allah - qui nous a guidés, nous a donné le courage, la volonté et la force pour mener à bien cet humble travail.*

*Merci de nous avoir menés au succès.*

*J'exprime ma plus grande gratitude à Mme Bebhedj Mabrouka, maître de conférences A à l'Université d'Echahid chikh Larbi Tébessi pour sa disponibilité, générosité et pour sa confiance qu'elle nous a accordée en acceptant de superviser ce travail.*

*Je tiens à exprimer mes vifs et chaleureux remerciements à Melle Metrouh Roumaïssa, qui nous a aidés durant nos travaux, guidés, encouragés et ainsi pour sa volonté, sa patience et ses précieux conseils qui nous amènent à exprimer nos rêves.*

*Je suis particulièrement reconnaissant à Mr. Boukoucha Mourad, qui a accepté d'évaluer notre travail en tant que président, et à Mr. Dakkak Ahmed, qui nous a aimablement honorés en assurant comme examinateur de notre jury.*

*Mes sincères remerciements aux techniciens qui m'ont accueilli dans les laboratoires et m'ont fourni les outils pour mener à bien cette recherche, et un grand merci à les doctorantes Hamimed Rayene et Limami Marwa.*

*Et toutes les personnes qui m'ont aidé à faire ce travail.*

## *Dédicace :*

*Je dédie cet ouvrage*

*A nos parents, nos frères et nos sœurs qui ont encouragé durant ces années d'études et ceux qui ont partagé avec nous tous les moments d'émotions lors de la réalisation de ce travail.*

*A nous familles ; la famille BEKHOUCHE et GASMI, la famille HERAIRIA et FARES, la famille SAIGAA et BOUFESSIS, la famille GUEHAIRIA et la famille TATAR et BOVAZDIA.*

*Peu importe ce que nous faisons ou disons, nous ne pourrons jamais vous remercier correctement. Votre affection nous couvre et votre présence à nos côtés a toujours été pour nous une source de force pour affronter divers obstacles.*

*A tous ceux que nous aimons*

## TABLE DES MATIERES

<b>Résumé</b>	
<b>Abstract</b>	
<b>ملخص</b>	
<b>Remerciement</b>	
<b>Dédicace</b>	
<b>Table de Matière</b>	
<b>Liste des Abréviations</b>	
<b>Liste des Tableaux</b>	
<b>Liste des Figures</b>	
<b>Introduction</b>	<b>01</b>
<b>Partie I : Synthèse bibliographique</b>	
<b>Chapitre 01 : généralité sur les bactéries lactiques</b>	
<b>1. Définition et caractères généraux</b>	<b>04</b>
<b>2. Habitat et origine</b>	<b>04</b>
<b>3. Classification des bactéries lactiques</b>	<b>04</b>
<b>Chapitre 02 : Propriétés Technologiques des bactéries lactiques</b>	
<b>1. Activité acidifiante</b>	<b>08</b>
<b>2. Activité protéolytique</b>	<b>08</b>
<b>3. Activité lipolytique</b>	<b>08</b>
<b>4. Activité aromatisant</b>	<b>08</b>
<b>5. Activité texturant</b>	<b>08</b>
<b>Chapitre 03 : Propriété pro biotique des bactéries lactiques</b>	
<b>1. Définition des souches pro biotique</b>	<b>10</b>
<b>2. Propriété et critère de sélection des souches pro biotique</b>	<b>10</b>
2.1. Résistance à l'acidité gastrique	11
2.2. Résistance aux sels biliaires	11
2.3. L'adhésion aux cellules épithéliales	11
2.4. Activité antimicrobienne	11
2.4.1. Activité antibactérienne	12
2.4.2. Activité antifongique	12
2.5. Résistance aux antibiotiques	12
2.6. Critère technologique des souches pro biotiques	12
<b>Chapitre 04 : les ferments lactiques</b>	
<b>1. Définition des ferments lactique</b>	<b>14</b>
<b>2. Type des ferments lactiques selon leur composition et températures de croissance</b>	<b>14</b>
<b>3. Les cultures mixtes des bactéries lactiques et interactions négatives et positives</b>	<b>15</b>
<b>4. Critères de sélection des ferments lactiques</b>	<b>15</b>
<b>PARTIE II : PATIE EXPEREMENTALE</b>	
<b>MATERIEL ET METHODES</b>	
<b>I. Isolement et identification</b>	<b>18</b>
1. Présentation d'échantillon	18
2. Isolement et purification des souches lactiques	19
2.1. Isolement	19
2.2. Purification	19
2.3. Identification microscopique	19
2.4. Teste catalase	20
2.5. Type fermentaire à différentes températures	20



<b>3. Conservation</b>	<b>20</b>
<b>II. Activité technologique des isolats</b>	<b>20</b>
1. <b>Activité acidifiante</b>	<b>20</b>
2. <b>Activité protéolytique</b>	<b>21</b>
3. <b>Activité lipolytique</b>	<b>21</b>
4. <b>Activité aromatisant</b>	<b>21</b>
5. <b>Activité texturant</b>	<b>22</b>
<b>III. Pouvoir probiotique</b>	<b>22</b>
1. <b>Résistance à l'acidité et selles biliaire</b>	<b>22</b>
1.1. <b>Résistance l'acidité</b>	<b>22</b>
1.2. <b>Résistance aux sels biliaire</b>	<b>22</b>
2. <b>Activité antimicrobienne</b>	<b>22</b>
3. <b>Résistance aux antibiotiques</b>	<b>23</b>
4. <b>Hydrophobicité</b>	<b>23</b>
5. <b>Auto agrégation</b>	<b>24</b>
6. <b>Test d'Hémolyse</b>	<b>24</b>
<b>IV. Sélection des ferments mixtes</b>	<b>24</b>
1. <b>Interaction positive et négative des souches</b>	<b>24</b>
2. <b>Activité Biotechnologique et probiotique des Ferments Mixtes</b>	<b>25</b>
3. <b>Essai de fabrication d'un yaourt probiotique</b>	<b>25</b>
<b>RESULTATS ET DISCUSSION</b>	
<b>I. Isolement et caractérisation des bactéries lactique</b>	<b>27</b>
<b>II. Caractérisation biotechnologique des bactéries lactiques isolées</b>	<b>31</b>
1. <b>Activité acidifiante</b>	<b>31</b>
2. <b>Activité protéolytique</b>	<b>35</b>
3. <b>Activité lypolitique</b>	<b>38</b>
4. <b>Activité texturant</b>	<b>45</b>
5. <b>Activité aromatisant</b>	<b>47</b>
<b>III. Pouvoir probiotique des bactéries lactiques isolées</b>	<b>48</b>
1. <b>La résistance à l'acidité</b>	<b>48</b>
2. <b>Résistance aux sels biliaries</b>	<b>50</b>
3. <b>Hydrophobicité</b>	<b>51</b>
4. <b>Auto agrégation</b>	<b>53</b>
5. <b>Résistance aux antibiotiques</b>	<b>53</b>
6. <b>Activité hémolytique</b>	<b>56</b>
<b>IV. Interactions entre les bactéries lactiques et reconstitutions des ferments mixtes</b>	<b>56</b>
<b>V. Aptitudes technologique des ferments mixtes reconstitué</b>	<b>58</b>
1. <b>Activité acidifiante</b>	<b>58</b>
2. <b>Activité protéolytique des ferments</b>	<b>60</b>
3. <b>Activité lipolytique des ferments</b>	<b>61</b>
4. <b>Activité texturant</b>	<b>64</b>
5. <b>Activité aromatisant des ferments</b>	<b>65</b>
<b>VI. Activité probiotique des ferments</b>	<b>66</b>
1. <b>Résistance à l'acidité</b>	<b>66</b>
2. <b>Résistance aux sels biliaries</b>	<b>68</b>
3. <b>Hydrophobicité 81</b>	<b>68</b>
4. <b>Auto-agrégation</b>	<b>69</b>
5. <b>Hémolyse</b>	<b>70</b>

<b>6. Résistance aux antibiotiques</b>	<b>71</b>
<b>VII. Activité antimicrobienne des cultures directes</b>	<b>72</b>
<b>1. Activité antibactérienne</b>	<b>72</b>
<b>2. Activité antifongique</b>	<b>78</b>
<b>VIII. Activité antimicrobienne de surnagent</b>	<b>80</b>
<b>IX. Activité antimicrobienne des ferments mixtes</b>	<b>83</b>
<b>1. Activité antibactérienne</b>	<b>83</b>
<b>2. Activité antifongique</b>	<b>84</b>
<b>X. Préparation et bio-aromatisation de yaourt</b>	<b>85</b>
<b>Conclusion</b>	<b>88</b>
<b>Perspective</b>	<b>88</b>
<b>Référence Bibliographique</b>	
<b>Annex</b>	

## LISTE DES ABREVIATIONS

**BL** : Bactéries lactiques

**CIF** : concentration inférieure fractionnelle

**CO<sub>2</sub>** : Dioxyde de carbone

**ARN** : Acide ribonucléique

**NaCl** : Chlorure de sodium

**ADH** : Arginine dihydrolase

**EPS** : Exopolysaccharides

**FAO** : Organisation pour l'alimentation et l'agriculture

**OMS** : Organisation mondiale de la Santé

**GRAS** : Generally Regarded As Safe (généralement reconnues comme sûres)

**ATB** : Antibiotique

**MRS** : Man-Rogosa et Sharp

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène

**NaOH** : soude

**PCA** : Plate Count Agar

**CaCO<sub>3</sub>** : carbonate de calcium

**VPI et VPII** : Vogues-Proskauer (I et II)

**MH** : Mueller Hinton

**PBS** : Solution saline tamponnée au phosphate

**FM** : Ferment Mixte

## LISTE DES FIGURES

Figure 01 : Observation au microscope électronique <i>Enterococcus faecium</i> (GX4000)
Figure 02 : Observation au microscope électronique à transmission de <i>Lactobacillus</i> sp (GX10000)
Figure 03 : Observation au microscope électronique à balayage de <i>Lactococcus lactis</i> (GX10000)
Figure 04 : Observation au microscope électronique à balayage de <i>Streptococcus Thermophilus</i> (GX7000)
Figure 05 : Aspect microscopique des souches lactiques isolées sur milieu MRS après coloration de Gram.
Figure 06 : Secteur représentative de la répartition des BL selon le type d'échantillon
Figure 07 : Secteur représentative de la répartition des BL en fonction du genre
Figure 08 : Représente les mesures de pH par le pH mètre
Figure 09 : Les flacons de lait avant et après le titrage par la soude
Figure 10 : Le pouvoir acidifiant des <i>Entérocooccus</i> et les <i>streptococcus</i> en fonction du temps
Figure 11 : Production d'acide lactique par les souches <i>Enterococcus</i> et <i>streptococcus</i> en fonction du temps
Figure 12 : Le pouvoir acidifiant des bacilles en fonction du temps
Figure 13 : Production de l'acide lactique par les bacilles en fonction du temps
Figure 14 : Le pouvoir acidifiant des coccobacilles
Figure 15 : La production d'acide lactique par les coccobacilles
Figure 16 : Résultats de protéolyse des souches entérocoques et streptococcus
Figure 17 : Résultats de protéolyse des Bacilles
Figure 18 : Le diamètre de zones de protéolyse des souches coccobacilles
Figure 19 : L'activité lipolytique des entérocoques sur MRS additionné de 1% 3% et 5% d'huile d'olive
Figure 20 : L'activité lipolytique des Bacille sur MRS additionné de 1% 3% et 5% d'huile d'olive
Figure 21 : L'activité lipolytique des coccobacilles sur MRS additionné de 1% 3% et 5% d'huile d'olive
Figure 22 : L'activité lipolytique des enterocoques sur MRS additionné de 1% 3% et 5% de Beurre
Figure 23 : L'activité lipolytique des bacilles sur MRS additionné de 1% 3% et 5% Beurre
Figure 24 : L'activité lipolytique des coccobacilles sur MRS additionné de 1% 3% et 5% de Beurre
Figure 25 : L'activité lipolytique des enterocoques sur MRS additionné de 1% 3% et 5% de tween80
Figure 26 : L'activité lipolytique des Bacilles sur MRS additionné de 1% 3% et 5% de tween80
Figure 27 : L'activité lipolytique des coccobacilles sur MRS additionné de 1% 3% et 5% de tween80
Figure 28 : Résultats des boîtes indiquent l'activité lipolytique positive de quelques isolats par des zones claires
Figure 29 : Photos représentatives de la production des Exopolysaccharides par quelques BL
Figure 30 : Photo représentative de la capacité aromatique de quelque BL.
Figure 31 : La résistance des souches lactiques individuelles aux milieux acides au pH 2.
Figure 32 : La résistance des souches lactiques individuelles aux milieux acides au pH 2.5.

Figure 33 : La résistance des souches lactiques individuelles aux milieux acides au pH 6.5.
Figure 34 : La résistance aux sels biliaires par les souches lactiques isolées.
Figure 35 : Résultats de test d'hydrophobicité des souches lactiques isolées.
Figure 35 : Représentative des résultats d'antibiogramme des quelques isolats lactiques.
Figure 36 : Pourcentages d'auto-agrégation des souches lactiques.
Figure 37 : Représentative d'activité hémolytique des BL isolés
Figure 38 : Le pouvoir acidifiant de 15 ferments mixtes, (La production de l'acide lactique par les 15 ferments mixtes en fonction de temps (H))
Figure 39 : Le pouvoir acidifiant de 15 ferments mixtes, (L'évolution de pH de milieu sous 15 ferments mixtes en fonction de temps (H))
Figures 40 : Photo représentative de l'activité protéolytique de quelques ferments sur un milieu MRS + Lait écrémé solide.
Figure 41 : Les diamètres de zones de protéolyse des ferments.
Figure 42 : Représentative de l'activité lipolytique des ferments mixtes en utilisant l'huile d'olive
Figure 43 : L'activité lipolytique des ferments mixtes en utilisant le Beurre
Figure 44 : Représentative de l'activité lipolytique des ferments mixtes en utilisant le Tween80
Figure 45 : Lipolyse des ferments mixtes utilisant de source lipolytique naturelle et artificielle
Figure 46 : La production des arômes par les ferments mixtes
Figure 47 : La résistance des ferments mixtes aux milieux acides au pH 2.
Figure 48 : La résistance des ferments mixtes aux milieux acides au pH de 2.5.
Figure 49 : La résistance des ferments mixtes aux milieux acides au pH 6.5.
Figure 50 : la résistance des ferments mixtes aux sels biliaires
Figure 51 : Résultats de test d'hydrophobicité des ferments lactique
Figure 52 : Pourcentages d'auto-agrégation des ferments lactiques.
Figure 53 : Activité hémolytique des ferments.
Figure 54 : Résultat d'antibiogramme des ferments mixtes.
Figure 55 : Représentante quelque exemple des zones d'inhibitions des souches pathogènes par les bactéries lactiques.
Figure 56 : L'activité antibactérienne des ferments mixtes vis-à-vis des souches indicatrices à Gram négatives
Figure 57 : L'activité antibactérien des mixtes vis-à-vis des souches indicatrices à Gram positives.
Figure 58 : Activité antifongique des ferments mixtes vis-à-vis des souches indicatrices
Figure 59 : Photos représentatives de yaourt préparé

## LISTE DES TABLEAUX

Tab 01	Les critères les plus utilisés dans différents laboratoires pour le screening des probiotiques. (Nousiainen et al., 2004).
Tab 02	Représente les produits artisanaux fermenté et utilisée comme échantillons
Tab 03	Présente le profil physiologique et biochimique des isolats
Tab 04	Résultats de production des EPS par les isolats lactiques après incubation 48h à 30C°
Tab 05	Interaction entre les bactéries lactiques sélectionnées.
Tab 06	Composition en souches des fermentes mixtes.
Tab 07	Lecture après incubation 48h à 30C°
Tab 08	Résultat de l'activité aromatisant des ferments mixtes
Tab 09	Résultat d'antibiogramme des ferments mixtes aux ATB
Tab 10	Résultats des interactions entre les souches de bactéries lactiques et les souches pathogènes, En mesurant le diamètre de la zone d'inhibition en (mm).
Tab 11	Les Résultats des interactions entre le surnageant de bactéries lactiques et les souches indicatrices pathogènes en (mm)

# **INTRODUCTION**

## INTRODUCTION

Le lait et les produits laitiers contiennent de nombreux nutriments importants et se caractérisent par une microflore lactique riche et diversifiée. Les bactéries lactiques (**BL**) sont les plus utilisées dans la fermentation des aliments, car elles produisent une large gamme de produits métaboliques et participent ainsi à l'amélioration du goût et de la texture des aliments fermentés (**Mokoena, 2017 ; Ruiz Rodríguez et al., 2019**).

En raison de leurs bienfaits pour la santé, certains BL sont largement utilisés comme probiotiques ; tels que *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* et *Streptococcus* (**Amrouche, 2005**). Ceci en le statu « GRAS » et déclarait comme Probiotique. Lorsqu'elles sont administrées en quantité suffisante, ces bactéries probiotiques vivantes améliorent la santé humaine ou animale, où plusieurs bienfaits pour la santé de l'hôte ont été enregistrés ; réduction de l'intolérance au lactose, du cholestérol et de la tension artérielle, prévention du cancer du côlon, etc... Tous ces effets bénéfiques se produisent principalement par contact direct de cellule à cellule, sécrétion de différentes molécules et/ou alimentation croisée microbienne (**Devi et al., 2015 ; Gómez et al., 2016 ; Mokoena, 2017**).

Les probiotiques sont disponibles dans les aliments fermentés, comme le yaourt, ou sous forme de suppléments contenant des bactéries vivantes pour construire le micro biote intestinal (**Mokoena, 2017**). Plusieurs tests *in vitro* ont été développés et appliqués pour identifier et sélectionner des probiotiques potentiels. Premièrement, la souche probiotique doit être correctement identifiée par des méthodes phénotypiques et génotypiques. Il doit être capable de survivre au pH acide de l'environnement de l'estomac et de résister aux effets nocifs des sels biliaries. De plus, il doit avoir la capacité de coloniser la paroi intestinale en adhérant au mucus et/ou aux cellules épithéliales humaines, réduisant ainsi l'attachement et la résistance des microorganismes pathogènes aux surfaces soit directement, soit par l'intermédiaire des agents antibactériens qu'ils produisent (**FAO/OMS, 2002 ; Shokryazdan et al., 2014**).

De plus, la souche probiotique sélectionnée doit être sûre, non pathogène et non toxique, et ne doit pas contenir de gènes de résistance aux antibiotiques pouvant être transférés à d'autres bactéries, notamment pathogènes (**Diana et al., 2015**).

Les produits probiotiques ont connu une croissance rapide sur le marché alimentaire mondial en raison de la sensibilisation croissante des consommateurs à la santé et de la demande d'aliments sains (**Iyer et al., 2011**). Pour cela, le probiotique doit posséder des propriétés technologiques lui permettant d'être utilisé en production industrielle (**Castex, 2009**).



## INTRODUCTION

Selon la littérature, un nombre considérable de BL sont isolés de différents aliments fermentés dans différentes parties du monde et leur potentiel probiotique et leur capacité à produire des substances importantes sur le plan industriel sont étudiés. A cet égard, les BL de Mraged, Raib et Fromage affiné Bouhezza prélevées à partir de différentes régions de l'est et sud-est Algérien, sont isolées. Après plusieurs expériences *in vitro*, des souches aux propriétés probiotiques sont sélectionnées.

Dans ce cadre, ce travail est subdivisé en deux parties principales :

- La première concerne une synthèse bibliographique partagée en deux sections, la première illustre les BL en générale et une deuxième illustre les ferments lactiques.
- La deuxième partie de ce travail est consacrée au travail expérimental proprement dit et comprend deux parties : matériel et méthodes puis la partie résultats et discussion est dédiée à l'illustration et la discussion des différents résultats obtenus qui répondent à l'objectif de travail fixés sur ;
  - Isolement et identification phénotypique de bactéries lactiques à partir de produits Algériens fermentés Artisanalement.
  - Etude des propriétés technologiques des isolats lactiques et étude du potentiel probiotique des souches et des ferments mixtes après leur sélection.
  - Essai de fabrication d'un yaourt probiotique et utilisation des additifs naturels pour son aromatisation.

**SYNTHESE  
BIBLIOGRAPHIQUE**

## 1. Définition et caractères généraux

Les bactéries lactiques (BL) sont des cellules vivantes, autonomes et procaryotes (**Doleyres, Y. 2003**) ; Le groupe des BL regroupe plusieurs genres caractérisés par leur capacité à fermenter les glucides et la production d'acide lactique. La fermentation est considérée comme homolactique : si l'acide lactique est pratiquement le seul produit formé, ce qui provoque une chute rapide du pH du milieu. Si d'autres composés sont également présents : acide acétique, éthanol, CO<sub>2</sub>, seule une partie du substrat est consacrée aux autres voies de fermentation : hétérolactique. Selon le mode de fermentation forcé ou préférentiel, on parle de bactéries homofermentaires ou hétérofermentaires. Certaines bactéries homofermentaires sont également capables d'utilisées la fermentation hétérolactique dans des conditions de croissance non optimales ou selon la nature des sucres utilisés. (**Leveau et Bouix, 1993**)

## 2. Caractères généraux

Les BL sont représentées par plusieurs genres d'importance d'ailleurs différente. Leurs cellules sont soit des cocci ou des bacilles (Leveau et Bouix, 1993). Elles sont à Gram positif, généralement immobiles, asporulées, catalase négatives, oxydase négatives généralement nitrate réductase négative, ce sont des bactéries anaérobies facultatives elles sont poly auxotrophes pour divers acides aminés et des acides gras, des bases nucléiques, des vitamines et des peptides, des sels et des glucides (Dellaglio et al., 1994)

## 3. Habitat

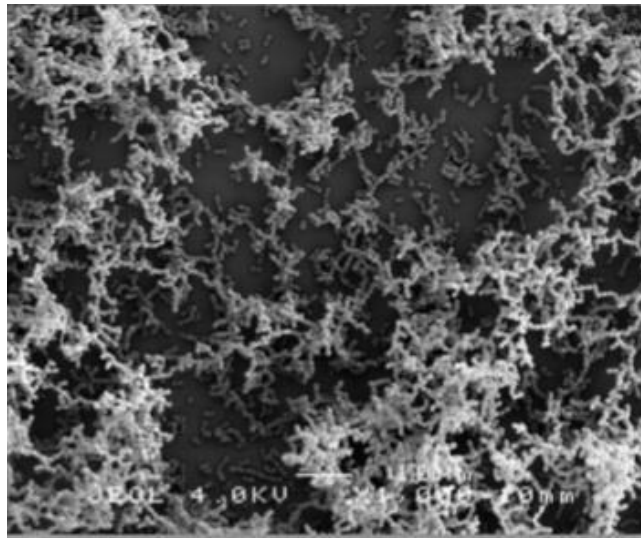
Les BL sont ubiquistes, très présentes dans la nature en raison de leur bonne capacité d'adaptation (**Axelsson, 2004**). Elles peuvent être associés à leurs hôtes (Humaine et animaux), dans un écosystème microbien complexe, tels que la cavité buccale ou les tractus gastro- intestinal et génital (**Klein et al., 1998**), ou à l'état libre dans L'environnement (sol, eau, fumier, ensilage...), et sur la surface des végétaux (plantes, fruits et légumes...) (**König et Fröhlich, 2009**). Et même dans des différents produits alimentaires tels que les produits laitiers fermentés (lait fermenté, fromage...) (**Holzappel et al., 2001**).

## 4. Classification

La classification phénotypique des bactéries lactiques est largement basée sur la morphologie, le mode de fermentation de glucose, la croissance à différentes températures, la capacité de croissance à de hautes concentrations de sel (6.5%, 18%), la tolérance aux pH acides, alcalins et à l'éthanol, la configuration de l'acide lactique produit à partir de glucose, l'hydrolyse de l'arginine, la formation d'acétone, etc. Les marqueurs chimio-taxonomiques comme la composition en acides gras et les constituants de la paroi cellulaire peuvent aussi être utiles dans la classification (**König et Fröhlich, 2009**). L'identification des espèces de

BL peut être réalisée par l'analyse de leur profil fermentaire des carbohydrates à l'aide du système API50CH (Curk et *al.*, 1993). L'analyse comparative des séquences d'ARN ribosomal 16S a entraîné des changements importants dans la taxonomie des bactéries lactiques (Salminen et *al.*, 2004). Selon la dernière édition de **Bergey's manual** de la bactériologie systématique (2009), les BL sont classées dans le Phylum des Firmicutes, la Classe des *Bacilli* et l'ordre des *Lactobacilles* renfermant trente-cinq genres répartis sur six familles. Parmi ces genres, seulement douze sont utilisés dans la biotechnologie alimentaire, il s'agit de :

***Enterococcus*** : ce genre comprend des cellules ovoïdes isolées, en paires ou en courtes chaînes, homofermentaires. Quelques espèces sont mobiles par des petits flagelles et d'autres possèdent une pseudo-catalase. Ce genre se caractérise par sa tolérance à 6.5% de NaCl, à un pH 9.6 et un intervalle de température compris entre 10°C et 45°C avec un optimale de

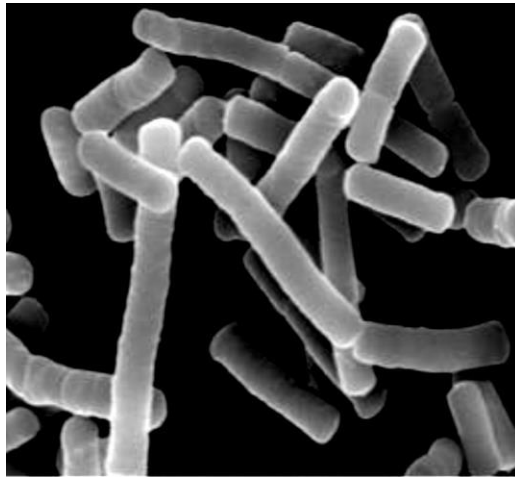


croissance de 35°C à 37°C.

**Figure 01** : Observation au microscope électronique *Enterococcusfaecium*(GX4000) (Kokkinos et *al.*, 1989)

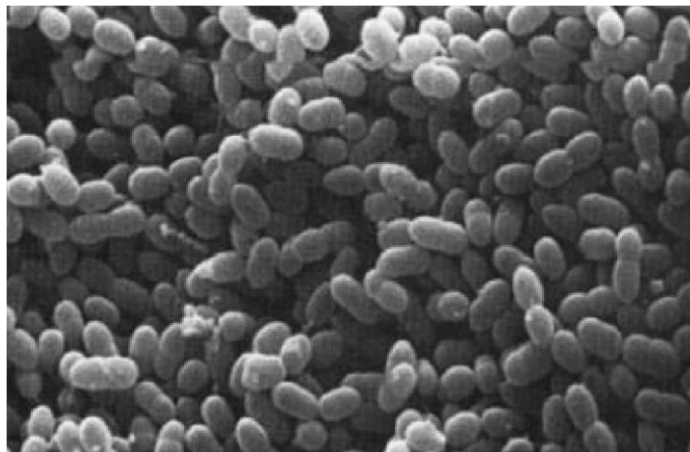
***Lactobacillus*** : les cellules de ce genre sont soit des bacilles longs parfois incurvés ou des coccobacilles courts isolés, comme elles peuvent former des chaînes. Elles sont généralement immobiles à l'exception de quelques espèces qui possèdent des flagelles péritriches. Les souches sont acidophiles et peuvent croître à un pH égal à 5 ou moins avec un optimum de 5.5 à 6.2. La température optimale de croissance est de 30°C à 40°C, mais peuvent croître à un intervalle de température allant de 2°C à 53°C. Les thermophiles sont incapables de se développer à moins de 15°C.

Le genre *Lactobacillus* peut être divisé en trois groupes : homofermentaires stricts, hétérofermentaires facultatifs et hétérofermentaires stricts.



**Figure 02** : Observation au microscope électronique à transmission de *Lactobacillus* sp.  
(GX10000) (Boumediene, 2013)

*Lactococcus* : les cellules de ce genre sont sphériques ou ovoïdes isolées, en paires, ou enchainées. De type mésophiles, leur température optimale varie de 10 à 40°C mais sont incapables de se développer à 45°C. Celles-ci se développent généralement à 4% de NaCl et à un pH proche de la neutralité, leur croissance s'arrêtant lorsque le pH du milieu atteint 4,5. Ce genre est un habitant typique des plantes, des animaux et de leurs produits.



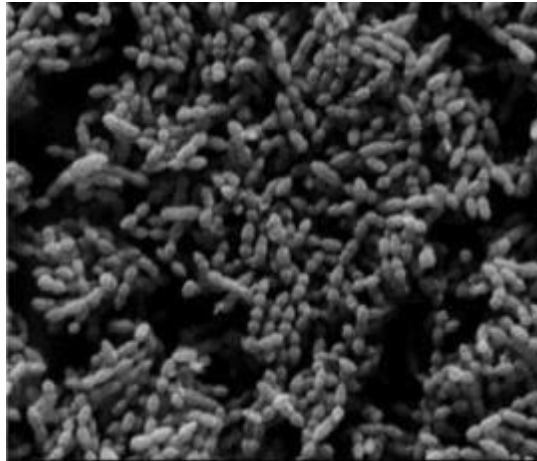
**Figure 03** : Observation au microscope électronique à balayage de *Lactococcus lactis*  
(GX10000) (Teuber et Geis, 1989)

*Leuconostoc* : ce genre comprend 10 espèces fastidieuses dans leurs exigences nutritionnelles, les cellules sont ellipsoïdales à sphériques généralement allongées qui s'arrangent en paires ou en chaines, non acidophiles avec un pH optimum de croissance égal à 6.5. Néanmoins, certains *leuconostocs* peuvent croître même à un pH de 4,5. La température optimale est comprise entre 20°C et 30°C mais la croissance peut aussi avoir lieu même à

5°C. Les leuconostocs sont des hétérofermentaires obligatoires. Sur un milieu concentré en saccharose, certaines souches produisent des dextrans extracellulaires.

***Pediococcus*** : ce genre est représenté par neuf espèces ayant un métabolisme homofermentaire. Il rassemble des cellules immobiles de forme sphérique parfois ovoïdes, isolées ou en paires qui se divisent dans deux directions perpendiculaires formant ainsi les tétrades mais jamais les chaînes. Certaines espèces produisent une catalase ou une pseudocatalase. Les cellules sont acidophiles mais non halophiles et croissent à pH : 5 mais pas à pH : 9, la température optimale de croissance varie de 25°C à 35°C.

***Streptococcus*** : les cellules de ce genre sont immobiles, sphériques ou ovoïdes qui ont un diamètre inférieur à 2µm avec une disposition en paires ou en chaînes longues. La fermentation des carbohydrates produit principalement de l'acide lactique mais il n'y a pas de production de gaz. Le peptidoglycane est du groupe A et leur température optimale de croissance est 37°C. Elles sont incapables de se développer à 15°C et à un pH 9.6. Beaucoup d'espèces sont commensales ou parasites de l'homme et des animaux et certaines sont



hautement pathogènes.

**Figure 04** : Observation au microscope électronique à balayage de *Streptococcus Thermophilus* (GX7000) (Vendramin et al., 2017)

***Vagococcus***: les cellules sont ovoïdes isolées, en paires ou en chaînes. La plupart des espèces sont mobiles par des flagelles péritriches. Elles sont capables de croître à 10°C mais non à 45°C sans production de gaz ni d'arginine dihydrolase (ADH).

***Bifidobacterium*** : Les bifidobactéries sont des anaérobies mais quelques espèces tolèrent l'Oxygène dans la présence ou non du CO<sub>2</sub>. Ces dernières sont dépourvues de la catalase, le contenu en G + C est de 61% (Mattarelli et Biavati, 2014). Elles sont des bactéries commensales de l'homme, elles sont retrouvées également chez les animaux (Biavati et al., 2000). Les conditions optimales de croissance des bifidobactéries d'origines

humaine se situent à des températures comprises entre 37°C et 41°C, et des valeurs de pH entre 6,5 et 7 (**Hadadji, 2007**). A l'heure actuelle les bifidobactéries sont les fameuses bactéries utilisées autant que probiotiques, à travers divers produits comme par exemple : les laits fermentés, des fromages...

### 1. Activité acidifiante

L'acidification est la propriété métabolique la plus recherchée des BL utilisées dans l'industrie alimentaire. Se manifeste par la fermentation des glucides au cours de la croissance bactérienne pour produire de l'acide lactique (**Mäyrä Mäkinen et Bigret, 2004 ; Monnet et al., 2008**) L'Acidification et l'action principale des bactéries agissant comme des enzymes ont des objectifs différents :

- La coagulation du lait (en facilitant l'action de la présure).
- La synérèse du caillé a augmenté. Impliqué dans les propriétés rhéologiques du produit final.
- Inhibe la croissance des bactéries nocives (**Larsen et Anon, 1989 et 1990**).

### 2. Activité protéolytique

La croissance jusqu'à des densités cellulaires permettant aux bactéries lactiques d'exercer des fonctions de fermentation repose sur un système protéolytique capable de répondre à tous les besoins en acides aminés en hydrolysant les protéines. Les BL présentent des potentiels divers, associés à leur équipement enzymatique, pour utilisation de fractions azotées. Les lactobacilles présentent généralement une activité protéolytique plus prononcée que les lactocoques (**Donkor et al., 2007 ; Roudj et al., 2009**).

### 3. Activité lipolytique

L'activité lipolytique des BL est moins importante que leur activité protéolytique. Les voies métaboliques associées à la lipolyse génèrent des acides gras libres et des précurseurs de saveur qui contribuent au profil global de saveur des aliments (**Desmazeaud, 1992 ; Casaburi et al., 2008**).

### 4. Activité aromatisant

Les BL peuvent produire des nombreux composés aromatiques (tels que :  $\alpha$ -acétolactate, acétaldéhyde, diacétyle, acétoïneet 2,3-butanediol, éthanol, acide acétique, formiate, etc.) principalement à partir de lactose, de citrate, d'acides aminés et de graisses. Cette propriété est particulièrement importante lors de la fabrication de laits fermentés, de fromages frais, de crèmes et de beurres, car la saveur principale de ces produits est associée à cette activité microbienne (**Bourgeois et Larpent, 1996 ; Gerrit et al., 2005 ; Cholet, 2006**).

### 5. Activité texturant

La capacité de synthèse d'exopolysaccharides (EPS) des BL jouent un rôle important dans la consistance et la rhéologie des produits transformés. (**Welman et Maddox, 2003 ; Ruas- Madiedo et al., 2002**).



Les LB *lbrueckii* ssp. *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* producteurs d'EPS sont utilisés dans la fabrication du yaourt pour améliorer la texture, éviter la synérèse et augmenter la viscosité du produit fini. L'EPS produit par la souche *Lc. Lactissp. Cremoris* est très prometteuse pour la structure et la viscosité des produits laitiers fermentés (Leroy et De Vuyst, 2004 ; Ho et al., 2007).

### 1. Définition des souches probiotiques

Le concept probiotique a bénéficié de plusieurs définitions qui ont évolué au fil du temps en fonction des connaissances scientifiques et des avancées technologiques (**Ait-Belgnaoui, 2006**). Le terme probiotique dérive des deux mots grecs "pros" et "bio" qui signifie littéralement "pour la vie" contrairement au terme antibiotique signifiant "contre la vie". Il a été introduit pour la première fois par (**Lilly et Stillwell en 1965**).

D'après la définition actuellement adoptée par FAO et l'OMS les probiotiques sont des microorganismes vivants (bactéries ou levures) qui, lorsqu'ils sont consommés en quantité adéquate, produisent un effet bénéfique pour la santé de l'hôte au-delà des effets nutritionnels traditionnels. (**Laffargue, 2015**).

### 2. Propriété et critère de sélection des souches probiotique

Les probiotiques ont des propriétés différentes selon l'espèce ou la souche microbienne. Il est important de connaître le genre et l'espèce de la souche utilisée, car l'effet probiotique est spécifique à la souche microbienne. (**Perceval, 1997**).

La non-pathogénicité (nocivité) des isolats est un critère très important, les isolats ayant le statut GRAS (Generally Regarded As Safe) sont également à privilégier. Or, le critère de viabilité ou de survie est important pour la sélection des probiotiques, qui doivent atteindre vivants leur lieu d'action, à savoir l'intestin, et ainsi résister aux différents mécanismes de défense de l'hôte. Les bactéries étant administrées par voie orale, elles doivent franchir les principales barrières du tractus gastro-intestinal : pH acide, sels biliaires, enzymes pancréatiques, etc. (**Lamoureux, 2000 ; Millette et al., 2008**).

**Le tableau 01** : les critères les plus utilisés dans différents laboratoires pour le screening des probiotiques. (**Nousiainen et al., 2004**).

Critère	But recherché
Résistance à l'acidité gastrique	Survie pendant le passage par l'estomac et duodénum
Résistance aux sels biliaires	Survie pendant le passage par l'intestin grêle
- Production d'acide (à partir de glucose et de lactose)	Production « de barrière acide » efficace dans l'intestin
Adhésion au mucus et/ou aux cellules épithéliales humaines	Colonisation efficace, réduction des sites d'adhésion des pathogènes à la surface
Production de substances antimicrobiennes	Inhibition du développement des germes pathogènes
Résistance à la chaleur	Survie pendant le processus de transformation
Bonnes propriétés technologiques	La stabilité, croissance sur une large échelle, survie dans le produit, résistance aux bactériophages

### 2.1. La résistance à l'acidité gastrique

La survie des bactéries dans le sue gastrique dépend de leur capacité à tolérer les bas pH. Le temps de passage peut être d'une heure à quatre heures selon l'individu et son régime. Par conséquent, quelques auteurs proposent que les souches probiotiques doivent résister à un pH de 2.5 dans un milieu de culture pendant quatre heures (**Ammor et Mayo, 2007**).

### 2.2. La résistance aux sels biliaries

La bile est un autre facteur important affectant le taux de survie des micro-organismes probiotiques. La quantité d'acides biliaries synthétisés à partir du cholestérol dans le foie est estimée à 500-700 ml/jour. Ces acides sont sécrétés par la vésicule biliaire dans le duodénum après qu'une personne a mangé de la nourriture. Les hydrolases des sels d'acides biliaries

(BSHS) catalysent l'hydrolyse des sels d'acides biliaries. L'hydrolyse gallique est méditée par divers genres de la microflore intestinale, y compris *Lactobacillus* (**Lundeen et Savage, 1990 ; Christiaens et al., 1992**). *Bifidobacterium* (**Grill et al., 2000a**). Plusieurs BSH ont été identifiées et caractérisées à partir de bactéries probiotiques, et la capacité des souches probiotiques à tolérer des concentrations de sels biliaries a souvent été l'un des critères de sélection des souches probiotiques (**Begley et al., 2006**).

### 2.3. L'adhésion aux cellules épithéliales

La capacité d'adhésion à la muqueuse intestinale est un critère de choix recommandé pour les probiotiques, car c'est une condition de la colonisation intestinale. L'adhésion est le premier mécanisme de défense contre l'invasion des bactéries pathogènes. (**Resyes-Gavilan et al., 2011**) (**palomares et al., 2007**). De plus, les bactéries probiotiques doivent adhérer à la muqueuse intestinale ou aux cellules épithéliales pour rester dans l'intestin. La capacité du BAL à adhérer aux surfaces muqueuses empêche leur élimination rapide en raison de la contraction intestinale et de l'efflux péristaltique du digestif et peut également fournir un avantage concurrentiel. La capacité des bactéries probiotiques à se fixer aux cellules intestinales a été largement étudiée (**Anderson et al., 2006**).

### 2.4. Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne est l'un des critères de sélection les plus importants pour les probiotiques. Les bactéries lactiques synthétisent des molécules à effet bactéricide ou bactériostatique, telles que les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, le diacétyle et la bactériocine. De plus, la production massive d'acide lactique et d'acide acétique confère au BL un effet antimicrobien intéressant. (**BELHAMRA, 2017**).

### 2.4.1. Activité antibactérienne

Plusieurs études ont montré l'effet inhibiteur des bactéries lactiques de Bactéries pathogènes. Par la capacité de la synthèse des molécules à action bactéricide ou bactériostatique comme les acides organiques, le peroxyde d'hydrogène, le dioxyde de carbone, le diacétyle et les bactériocines. Ces mécanismes antimicrobiens ont été exploités pour améliorer la préservation des aliments. (**Labioui.2005**).

### 2.4.2. Activité Antifongique

Les bactéries lactiques produisent une large gamme de composés qui peuvent agir en synergie contre les levures et les champignons filamenteux (**Magnusson et al., 2003**). **Cabo et al., (2002)** ont suggéré que l'activité antifongique des bactéries lactiques est due à l'effet synergique de l'acide lactique et de l'acide acétique produits par les bactéries. De nombreuses études ont montré que les bactéries lactiques produisent des composés antifongiques qui diffèrent des acides organiques, ces composés sont difficiles à isoler et à caractériser en raison de leur faible concentration, de leur composition chimique, car ce sont des molécules actives en synergie avec une faible activité. Pour des raisons individuelles ou pour d'autres raisons inconnues.

### 2.5. Résistance aux antibiotiques

De par leur structure et leur physiologie, les bactéries lactiques sont naturellement résistantes à de nombreux antibiotiques (ATB). Les travaux de **Temmerman et al., (2003)**, ont montré que 68,4 % des probiotiques isolés sont résistants à un ou plusieurs ATB. Les souches de *Lactobacillus* sont résistantes à la kanamycine (81%), à la tétracycline (29,5%) et à l'érythromycine (12%). Et chloramphénicol (8,5%), 38 isolats d'*Enterococcus faecium*se sont avérés résistants à la vancomycine. Dans la plupart des cas, la résistance n'est pas contagieuse, mais il est possible que le plasmide codant pour la résistance aux ATB soit transmis à d'autres espèces et genres. C'est une raison importante pour sélectionner des souches qui n'ont pas de potentiel de transfert de résistance (**Hadef, 2012**).

### 2.6. Critères technologiques de sélection de souche probiotique

En plus de l'innocuité et des propriétés fonctionnelles, des critères technologiques sont également pris en considération dans la sélection des souches probiotiques, tels que :

- **Viabilité et stabilité des microorganismes**

Pour exercer leur effet bénéfique sur la santé, les probiotiques doivent survivre en grand nombre au processus de production et au stockage au froid qui s'ensuit. En fait, il est généralement admis qu'un minimum de 10<sup>9</sup> de cellules viables par gramme de produit est nécessaire pour obtenir un effet probiotique. Cependant, il est également nécessaire d'assurer

la stabilité physique et génétique des cellules et toutes les propriétés nécessaires pour exploiter leurs bienfaits pour la santé (**Izquierdo, 2009**). De plus, ces isolats doivent être viables sans reproduction, afin qu'elles n'affectent pas le goût ou l'arôme du produit ou n'augmentent pas l'acidité (**Mattila-Sandholm et al., 2002**).

- **Propriété acidifiante**

La fonction d'acidification est la fonction la plus souhaitable de bactéries lactiques pour la production importante d'acide lactique, qui conduit à une acidification rapide et soutenue (**Alioua et al., 2018**).

Les conséquences physico-chimiques et microbiologiques sont résumées d'après (**Surta et al., 1998**) : coagulation du lait, synérèse du caillé et dissolution du calcium micellaire, il favorise les propriétés organoleptiques des produits laitiers fermentés et empêche la croissance de micro-organismes nuisibles.

## 1. Définition

Un ferment lactique est une préparation contenant un grand nombre de micro-organismes (une seule espèce ou plusieurs) qui sont ajoutés au lait pour produire des aliments fermentés comme le Yaourt ; lait fermenté et fromages en accélérant et en dirigeant leur processus de fermentation (Yildiz, 2010 ; Leroy et De Vuyst, 2004). La production de la fermentation lactique est basée sur la technique de "culture pure" développée à l'origine par Robert Koch.

Les BL produites comme ferments commerciaux sont des cultures pures ou un mélange appartenant aux genres: *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Bifidobacterium* (Leveau et Bouix, 1993).

## 2. Types de ferments lactiques selon leurs compositions et la température de croissance

Les ferments lactiques peuvent être classés en se basant sur leur température de croissance, leur fonction ou leur composition (Wouters et al., 2002 ; Monnet et al., 2008)

### A. Selon la température de croissance

**Les ferments mésophiles :** Les bactéries lactiques qui composent ces ferments ont une température optimale de croissance entre 25°C et 30°C selon les souches, atteignant une température maximale de fermentation de 38°C à 40°C. Ils sont principalement composés des espèces acidifiantes et des espèces aromatisants. Les ferments mésophiles sont couramment utilisés dans la fabrication de nombreux types de fromages, notamment les fromages frais, certains laits fermentés et le beurre (Chamba, 2008 ; Carminati et al., 2010).

**Les ferments thermophiles :** Leur température de croissance optimale se situe entre 40°C et 50°C. Les ferments thermophiles sont couramment utilisés pour fabriquer des yaourts, certains laits fermentés et certains fromages affinés, comme l'Emmental et le Gruyère (ils comprennent *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* et *Streptococcus thermophilus*) (MäyräMäkinen et Bigret, 2004 ; Carminati et al., 2010).

### B. Selon la composition

Les ferments lactiques peuvent être divisés en trois catégories :

**Les ferments purs :** constitués d'une seule souche bien caractérisée, c'est-à-dire une culture issue en principe d'une seule cellule bactérienne.

**Les ferments mixtes :** Elles sont formées de mélanges de souches en nombre et proportions indéterminés, qui appartiennent à des types lytiques différents et ont donc généralement une bonne activité acidifiante.

**Les ferments mixtes sélectionnés :** contiennent plusieurs souches bien définies, d'une ou plusieurs espèces, et les rapports entre les souches sont connus et définis.

### 3. Les cultures mixtes des bactéries lactiques et interactions négatives et positives

Dans la pratique industrielle, les bactéries lactiques sont souvent associées entre elles ou avec d'autres microorganismes (bactéries lactiques, levures ou moisissures), formant des cultures mixtes dans lesquelles différents types de réactions peuvent se produire. Toutes ces interactions contrôlent la structure et les activités de la communauté microbienne. Ils sont classés comme Deux catégories :

- Les interactions négatives correspondant à l'inhibition de la croissance et de l'activité métabolique
- Les interactions positives caractérisées par la stimulation d'un ou plusieurs microorganismes (Cholet, 2006 ; Monnet *et al.*, 2008).

**Interactions positives :** Lorsque l'on parle d'interactions positives, on distingue la symbiose, dans laquelle l'un des partenaires est stimulé par la production de substrats ou la destruction de facteurs inhibiteurs, et le mutualisme, dans laquelle l'interaction profite aux deux partenaires (Cholet, 2006).

**Interactions négatives :** Les micro-organismes s'inhibent mutuellement par plusieurs mécanismes. Si l'inhibition implique la production d'un inhibiteur, et si un seul microorganisme est inhibé par l'autre, on peut parler d'amensalisme. En revanche, si le mécanisme inhibiteur est réciproque, il s'agit d'un phénomène de compétition. Cette compétition peut être en termes d'espace disponible (éviter les contacts) et/ou de disponibilité du substrat. L'antagonisme indique un conflit entre deux groupes par la production de molécules inhibitrices de spécificité générale (Cholet, 2006 ; Monnet *et al.*, 2008).

### 4. Critères de sélection pour la fermentation lactique

Les ferments lactiques sont sélectionnés en fonction d'un certain nombre de critères pour répondre aux spécifications des utilisateurs et aux restrictions des fabricants. Ces critères peuvent être liés à la fonction technique, aux performances et à la sécurité de la race. Ils varient selon le type de produit recherché, les caractéristiques des matières premières à transformer et la technologie utilisée (Béal *et al.*, 2008).

**Les critères de sécurité :** Les bactéries susceptibles d'être produites et utilisées comme un ferment lactique ne doivent bien entendu pas être de nature pathogène et ne doivent pas constituer des substances toxiques. C'est le cas de la plupart des bactéries lactiques GRAS, à l'exception de certains entérocoques (Ammor *et al.*, 2006 ; Monnet *et al.*, 2008)

# **PARTIE EXPERIMENTALE**



# **MATERIEL ET METHODES**

## I. Isolement et identification

### 1. Présentation d'échantillon

L'isolement des souches de BL a été effectué à partir d'une collection des produits artisanales [(12) échantillons de Raib ; (06) échantillons de Bouhezza (le fromage affiné) ; (10) végétaux fermentés artisanalement « Mraged »]. Provenant de différentes wilayas d'Algérie. Les différents échantillons ont été prélevés dans une boîte stérile dans des conditions aseptiques, et acheminé au laboratoire au froid où il sera analysé en respectant le temps.

Les (28) produits fermentés artisanalement et utilisés comme échantillons sont présentés dans le Tableau 02.

**Tableau 02 :** Représente les produits artisanaux fermenté et utilisée comme échantillons

Échantillons	Code	Nature	Region
Piment	E1	Végétaux	Tébessa(chraiaa)
Olive	E2	Végétaux	Tébessa (ougla)
Bouhaza	E3	Fromage affiné	Souk ahras
Fenouille	E4	Végétaux	Tébessa (Hammamet)
Bouhaza	E5	Fromage affiné	Tébessa (Stahgentis)
Piment	E6	Végétaux	Biskra
Broccoli	E7	Végétaux	Tébessa (Hammamet)
Carotte	E8	Végétaux	Tébessa (Hammamet)
Bouhaza	E9	Fromage affiné	Oum El Bouaghi (Messkiana)
Bouhaza	E10	Fromage affiné	Tébessa (Aouinette)
Bouhaza	E11	Fromage affiné	Souk ahras
Piment	E12	Végétaux	Tébessa (El Ma Labiedh)
Piment	E13	Végétaux	Owedsouf
Carotte	E14	Végétaux	Tébessa (Hammamet)
Piment	E15	Végétaux	Tébessa (Birmokadem)
Bouhaza	E16	Fromage affiné	Tébessa (Hammamet)
Raib	A	Lait de vache	Tébessa (Hammamet)
Raib	B	Lait de vache	Tébessa
Raib	C	Lait de vache	Souk Ahras(aïne sanoure)
Raib	D	Lait de vache	Tébessa kissa
Raib	E	Lait de vache	Laitier skanska (malbanet el baraka)
Raib	F	Lait de vache	Blida (benimared)

## MATERIEL ET METHODES

Raib	G	Lait de chèvre	Tébessa (gueriguer)
Raib	H	Lait de vache	Tébessa (bire MkaDEM)
Raib	I	Lait de vache	Jijel (el –anser)
Raib	J	Lait de chèvre	Jijel (el-anser)
Raib	K	Lait de vache	Blida (Beni mared)
Raib	L	Lait de vache	Souk ahras (aine sanourtalale)

### 2. Isolement et Purification des souches lactiques

Pour les BL de genres différents, les étapes d'isolement et de purification étaient les mêmes, en utilisant le milieu adapté pour *Lactobacillus* Man-Rogosa et Sharp (MRS), dans des périodes d'incubation et des températures séparées.

Les 28 produits fermentés artisanaux utilisés comme échantillons sont répertoriés dans le tableau 02.

#### 2.1. Isolement

Une méthode d'isolement classique a été utilisée pour obtenir des colonies de BL convenablement isolées ; qui se réalise selon quelque étape : 1g de chaque échantillon ont été mélangés aseptiquement dans 9 ml d'eau physiologique. Une série de dilutions décimales de  $10^{-1}$  à  $10^{-5}$  a été réalisée. Après un ensemencement sur le milieu MRS solide, une incubation pendant 24h à 30°C est nécessaire.

#### 2.2. Purification

Après la récupération des souches blanchâtres et crémeuses (BL suspectées), une série de repiquages successifs a été réalisée pour s'assurer la pureté de l'isolat. Le premier repiquage a été réalisé en milieu d'enrichissement (MRS liquide) suivi d'ensemencement par stries d'épuisement en gélose MRS.

Le nombre de repiquage en série entre le milieu d'enrichissement et l'inoculation peut être de deux, trois ou quatre fois jusqu'à l'obtention de colonies assez pure. Après chaque repiquage, des examens macro et microscopie périodiques ont été effectués pour vérifier la pureté et toujours le même type de la colonie initiale. La série de repiquage a été réalisée également en inoculant des colonies pures à partir de lait écrémé stérilisé à 0% pour confirmer l'acidification positive, indiquant qu'il s'agit d'un isolat lactique fort.

#### 2.3. Identification microscopique

Les isolats colorés au Gram sont observés au microscope ; Les souches Gram positives sont sélectionnées en marquant leur morphologie et leur regroupement.

### 2.4. Test de catalase

La catalase est détectée en émulsionnant la culture bactérienne à tester dans 10 volumes frais de solution de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Le dégagement gazeux important sous forme de mousse traduit la décomposition du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sous l'influence de l'enzyme à tester (**Hadef.,2012**). Un test de catalase selon les procédures décrites par (**Gibson et AbdelMalek.,1945**). Seuls les souches Gram positifs catalase-négatifs seront conservées et soumises aux tests spécifiques de la recherche.

### 2.5. Le type de fermentation et la croissance à différent température

Par définition, l'hétéro-fermentation est la capacité des bactéries lactiques à produire des molécules différentes du lactate telles que le CO<sub>2</sub>, l'acétate, l'éthanol...à partir du sucre (**Bouzaid, et al.,2012**). Pour distinguer les bactéries lactiques homofermentaires des bactéries lactiques hétérofermentaires, des tests d'hétéro-fermentation sont réalisés. Ils consistent le repiquage d'une colonie donnée dans un tube de 5ml de bouillon contenant au préalable une cloche de Durham à la moyenne de 3 répétitions. Après ensemencement les tubes sont mis à incuber à 10°,30° et 44C° pendant 24h.

Le résultat est lu en fonction de l'aspect du milieu (trouble), et du dégagement gazeux dans la cloche : présence de gaz indique l'hétérofermentation tandis que son absence indique l'homofermentation.

## 3. Conservation

Pour confirmer la viabilité des bactéries sélectionnées lors des tests et avant identification, deux méthodes de conservation ont été utilisées :

- **Conservation à court terme** : en double sur gélose de conservation à 4°C.
- **Conservation à long terme** : en double exemplaire par congélation à -20°C dans des Eppendorf à contenant du MRS liquide inoculé avec un isolat lactique en présence de glycérol.

## II. Activité technologique des isolats

### 1. Activité acidifiante

Pour déterminer l'activité acidifiante de nos isolats lactiques, on a préparé du lait écrémé (0%) de matière grasse (MG) dans des conditions aseptiques, et on a ensemencé 20µl de culture jeune (BL enrichis pendant 24h à 30°C) dans 50ml de lait écrémé. Incuber à 37°C avec des intervalles de 2h, 4h, 6h, 24h, L'activité acidifiante est mesurée d'une part en plongeant l'électrode d'un pH-mètre dans le volume de lait ensemencé et d'autre part par

l'acidité titrable par la soude (NaOH) en ajoutant deux gouttes phénolphtaléine. L'acidité est déterminée par la formule :  $\text{Acidité (D}^\circ) = V(\text{NaOH}) \times 10$ .



**Figure 05 :** Représente le titrage par la soude

### 2. Activité protéolytique

Pour déterminer l'activité protéolytique des bactéries lactiques deux milieux sont préparés ; gélose PCA additionnée de 2% de lait écrémé, et lait écrémé additionnée de 5% d'agar ; coulés et solidifiés puisensemencé par les BL a testés ; puis incubés à 30°C pendant 48h à 96h. La protéolyse est révélée par des zones claires.

### 3. Activité lipolytique

La lipolyse est mise en évidence sur gélose MRS supplémentée de différents substrats lipidiques (naturels et artificiels) à différentes concentrations

Sur gélose MRS opacifiée avec un matériau de base à 0,5 % de carbonate de calcium (CaCo3) et source de Lipide naturel : une fois d'huile d'olive et autre de beurre ; à différentes concentrations de 1, 3 et 5%,ensemencé par touche et incubé 48h à 30°C. Un halo clair se forme autour des colonies indique le résultat positive de l'activité lipolytique.

Dans le même concept, l'activité a également été évaluée en utilisant du milieu MRS additionné de 0,5 % de NaCl, 0,01 % de CaCl<sub>2</sub> et de substance lipidique artificielle (Tween 80) à des concentrations de 1 %, 3 % et 5 %. Après 72 heures d'incubation à 30°C, l'activité lipolytique positive a été déterminée par la formation d'une zone précipitée autour de la colonie. (Guiraud et Galzy.,1980)

### 4. Activité aromatisant

L'activité aromatisant révélée par la production de diacétyle. Pour ce faire, chaque tube contenant 5 ml du lait écrémé stérile a étéensemencé par une souche des BL sélectionnées. Après incubation pendant 24h à 30°C, et coagulation du lait, les réactifs de Vogues Proskauer

VPI et VPII ont été ajoutés et laissés reposer 10 minutes. La production de diacétyle est identifiée par un anneau rouge en haut du tube (Colombo et al., 2019).

### 5. Activité texturante

L'activité texturante a été détectée sur un milieu hypersaccharosée déjà coulée et solidifiée, utilisé pour la production d'exo polysaccharide (EPS), la souche à tester a été striée sur la surface. Les boîtes ont été incubées à 30°C pendant 48 heures. Les isolats producteurs d'EPS ont été détectés par la formation de colonies visqueuses. Les colonies mucoïdes apparaissent comme des colonies brillantes et lisses. (Abdallah et al., 2019).

## III. Pouvoir probiotique

### 1. La résistance à l'acidité et selles biliaires

#### 1.1. La résistance à l'acidité

La résistance des BL à l'acidité a été testée selon le protocole utilisé par Tambekar et Bhutada (2010), avec quelques modifications. Les bactéries ont été enrichies dans bouillon MRS. Après incubation, les culots bactériens cultivés ont été recueillis après centrifugation à 13 000 tr/min/4 min, après les cellules ont été inoculées dans un bouillon MRS (10 ml), est initialement ajustées. Pour différentes valeurs de pH (2 et 2,5). Un bouillon MRS ajusté à pH 6,5 a été utilisé comme témoin. La densité optique ( $D_{660nm}$ ) est déterminée à temps zéro heure et après 2 et 3 heures d'incubation à 37°C.

#### 1.2. La résistance aux selles biliaires

La concentration de bile intestinale est de 0,3% (p/v) et le temps de séjour des aliments dans l'intestin grêle est approximativement de 4 h (Prasad et al., 1998). L'expérience a été étudiée selon le protocole utilisé par Tambekar et Bhutada (2010), avec quelque modification. Les souches sontensemencées dans un bouillon MRS supplémenté de 0,3% de sels biliaires et incubées à 30°C. Au cours de l'incubation de 4h, La croissance a été vérifiée par la mesure de la densité optique (D.O. 600nm).

### 2. L'activité antimicrobienne

Pour déterminer l'activité antibactérienne de BL, plusieurs méthodes peuvent être utilisées. Dans cette étude en utilisant la méthode de diffusion en puits légèrement modifiée (Hechard et al., 1990). L'effet inhibiteur de BL a été évalué vis-à-vis des souches indicatrices. Il s'agit de 31 souches (*Pseudomonas fluorescens* 1207, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Staphylococcus saprophytus* CCM2635, *Pseudomonas aeruginosa* Cet I, *Klebsiella pneumoniae* 1205, *Escherichia coli* SS1951, *Escherichia coli* 1648, *Klebsiella* sp. E6, *Pseudomonas aeruginosa* 568, *Escherichia coli* SS2109, *Proteus vulgaris* CECT165, *Staphylococcus*

*aureus*4266, *Proteus vulgaris* 489, *Staphylococcus epidermidis* CCM 901, *Candida sp.* E9, *Staphylococcus aureus* E6, *Listeria monocytogenes* 147, *Bacillus cereus* PCM 482, *Candida sp.* E7R2, *Proteus vulgaris* E14, *Escherichia coli* NCTC 100418, *Candida sp.* E10, *Candida sp.* *Klebsiella pneumoniae* I2, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Enterobacter aerogenes* E9, *Pseudomonas fluorescens*L1, *Proteus vulgaris* 483P7, *Candida sp.* E6, *Klebsiella pneumoniae* E11 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923).

Des cultures d'une nuit des bactéries et levures indicatrices ont été préparées préalablement sur bouillon nutritif et incubées en anaérobiose à 37°C pendant 18 h à 24h. Les cultures d'une nuit ont été préparées, également, sur bouillon MRS pour les bactéries lactiques. Après l'intubation, les souches indicatrices ont été striées à la surface de la gélose Mueller Hinton (MH) pour les bactéries test et le milieu Sabouraud pour les levures. Des puits adjacents (6 mm) ont été réalisés dans de la gélose molle (0,8%), 20µl des cultures directes de BL ont été versés dans les puits, Les zones d'inhibition ont été enregistrées suite d'une nuit d'incubation à 37°C.

L'activité a été répétée par le même protocole tout en utilisant le surnageant neutralisé des BL sélectionnées, et les résultats ont été révélés également après la même durée d'incubation.

### 3. Résistance aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques (ATB) de BL a été réalisée par la méthode de l'antibiogramme illustrée par (Leroy et al.,2006). Après avoirensemencé le milieu MH à la surface avec les cultures lactique de 0,5MacF, il est et chargée en surface avec des disques d'ATB contenant de l'érythromycine (15 µg), de la tétracycline (30 µg), de la ciprofloxacine (5 µg), de l'ampicilline (10 µg), de la gentamicine (10 µg) et de l'amoxicilline acide clavulanique (30 µg).

Les résultats de résistance ou de sensibilité sont évalués en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition puis comparés au seuil de sensibilité interprétatif du **Clinical and Laboratory Standards Institute (2010)**.

### 4. Hydrophobicité

L'hydrophobicité a été déterminée selon la méthode décrite par (Iyer et al., 2010) :

- Préparation de cultures lactiques de 18 h dans un bouillon MRS.
  - Les culots bactériens ont été récupérés par centrifugation à froid à 12 000 tr/min/5 min suivi de deux lavages consécutifs et remis en suspension dans 1,2 ml de tampon magnésium urée phosphate (pH 6,5).
- Réglez la densité optique initiale de la suspension à env. 1,0 à 450 nm (DO initiale).

## MATERIEL ET METHODES

- Ensuite, 0,6 ml de xylène a été lentement ajouté à 3 ml de la suspension bactérienne.
- Puis incubé à 37 ° C pendant 10 minutes. Le mélange a été vortexé pendant 2 minutes.
- Après 15 min, récupérer la phase aqueuse avec une pipette Pasteur et mesurer la densité optique finale ((ODale)).

La différence de densité optique est une mesure de l'hydrophobicité de la surface cellulaire (H%) calculée par l'équation suivante :

$$\% \text{ Hydrophobicity} = \text{DO initial} - \text{DO final} / \text{DO initial} \times 100$$

### 5. Auto-agrégation

Pour une analyse quantitative, l'auto-agrégation est généralement mesurée par un essai de sédimentation ou de décantation

La souche a été mise avec une solution saline tamponnée au phosphate (PBS). La Sédimentation des agrégats est enregistrée en mesurant la turbidité des cultures depuis le haut des tubes à des intervalles donnés (1h, 2h et 3h). La réduction de la turbidité est ensuite tracée en fonction du temps, soit comme valeur de la densité optique ou comme fraction de la turbidité initiale (**Del Re et al., 2000**).

### 6. Test d'hémolyse

Le caractère hémolytique a été recherché par ensemencement en stries de la gélose au sang (PCA+ Sang5%). Après incubation pendant une période de 24h à 37°C, le type d'hémolyse a été examiné. Il peut être  $\alpha$  hémolytiques (couleur verte autour des colonies) ;  $\beta$  hémolytiques (éclaircissement autour des colonies) ou  $\gamma$  hémolytiques (le milieu n'est pas modifié). (**Hadef et El Hadj-Khelil, 2012**).

## IV. Sélection des ferments mixtes

Pour la préparation de ferments lactiques mixtes, le choix de ceux qui ont un effet antagoniste les uns sur les autres est une condition pour éviter l'inhibition de la croissance ou de l'activité métabolique (**Choisy et al., 1997**).

### 1. Interactions positives et négatives des souches

Le choix des ferments mixtes repose sur l'étude des interactions entre les bactéries lactiques. Elles se Divises en deux catégories (**Choisy et al., 1997**) :

**Les interactions positives** : qui se caractérisent par la stimulation d'un ou de plusieurs micro-organismes.



**Les interactions négatives** : qui correspondent à une inhibition de la croissance et de l'activité métabolique ; 25 souches de bactéries lactiques ont été choisies pour réaliser ce test décrit par **Fleming et al., (1975)**.

Les souches à tester ont été ensemencées en touche sur la gélose MRS préalablement coulée et solidifiée. On les laisse sécher à température ambiante et, en parallèle, on inocule 7ml de la gélose MRS fondue (refroidie à 39°C) par 0.5 mL de la souche indicatrice, le mélange est ensuite coulé à la surface de la gélose MRS ensemencée en touches.

Après une incubation à 37°C pendant 24h ; l'activité positive est révélée par l'absence des zones d'inhibition (interaction négative). Les souches qui non pas un effet inhibiteur entre eux ont été choisies pour la reconstitution de ferments Mixtes (FM).

### **2. Activité Biotechnologique et probiotique des Ferments Mixtes**

Les FM sélectionnés ont été soumis aux tests de pouvoir biotechnologique : acidité et pH qui ont été mesurés à des intervalles de 2heures, 4heures, 6heures et 24h, activité protéolytique, la lipolyse et l'activité aromatique et texturent ; et aux tests de pouvoir probiotique : la résistance à l'acidité et selles biliaires activité antimicrobienne (antibactérienne et antifongique), résistance aux antibiotiques, hydrophobicité, autoagrégation et l'hémolyse. Réaliser par le même protocole des souches lactiques isolées.

### **3. Essai de fabrication d'un yaourt Probiotique**

Des yaourts probiotiques ont été préparés selon l'étude (**Huang et al., 2020**). Des mélanges de lait entier en poudre + saccharose et eau ont été pasteurisés à 95 °C pendant 5 min, puis immédiatement refroidis à 37 °C. En particulier, nous avons ajouté les ferments sélectionnés avec un taux d'inoculation de 5 % (v/v). Les échantillons ont été versés dans des récipients stériles et des additifs naturels (Miel, huile de sésame et des arômes fruités) ont été ajoutées avec des concentrations bien déterminées (selon la concentration inhibitrice fractionnaire « CIF ») et incubés à 37 °C pendant 24 h. À la fin du processus de fermentation, le pH, l'acidité titrable, le taux d'humidité, le taux de protéine et des acides gras ont été mesurés.

# **RESULTATS ET DISCUSSION**

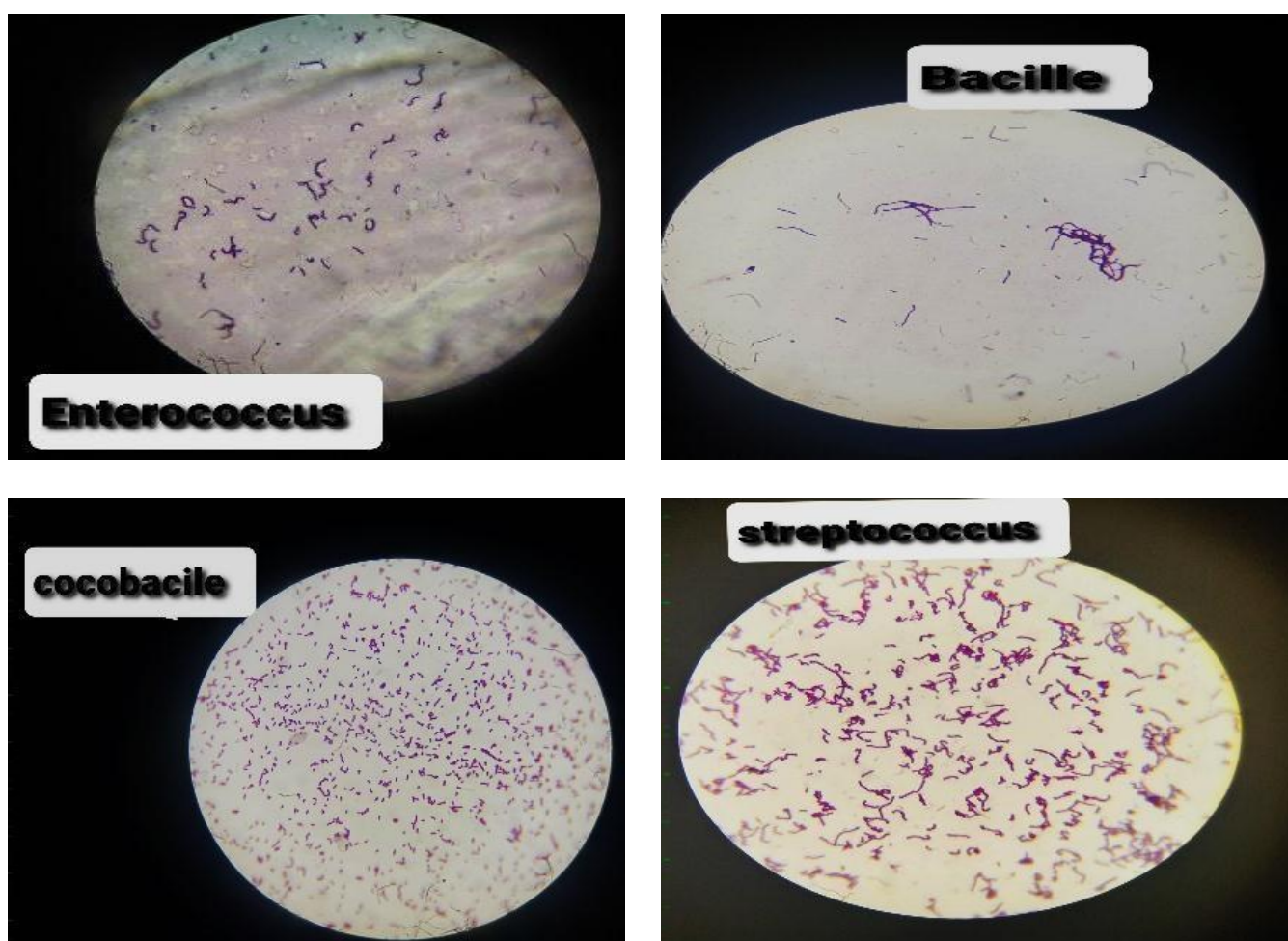
### I. Isolement et Caractérisation des BL

Un totale de 46 souches ont été isolées et purifiées à partir d'une gamme des produits fermentés (végétaux fermentés et produits laitiers fermentés artisanalement), sur milieu MRS par l'utilisation de méthodes classiques.

#### Examen macro et microscopique

Les isolats sont apparus sous forme des colonies circulaires ou lenticulaire blanchâtres, de petites tailles ou de taille moyenne. Sur bouillon les souches présentent un trouble homogène qui caractérise le groupe des BL.

L'observation microscopique a révélé différentes formes de cellules : bâtonnet et Cocci, avec un regroupement en diplo, en chaînette ou isolé.



**Figure 06** : Aspect microscopique des souches lactiques isolées sur milieu MRS après coloration de Gram.

#### Teste Physiologique et biochimique

Les caractéristiques physiologiques et biochimiques des isolats sont présentées dans le **tableau 03**, regroupe le profil fermentaire des sucres. L'analyse de ces résultats a montré que

## RESULTATS ET DISCUSSION

tous les isolats se sont avérés à gram positif et catalase négative ce qui est caractéristique des bactéries lactiques. Parmi la collection des 46 souches neuf isolats ont montré une capacité à croître à 10°C et 30°C mais pas à 45°C, et 14 souches présentent un caractère hétérofermentaire.

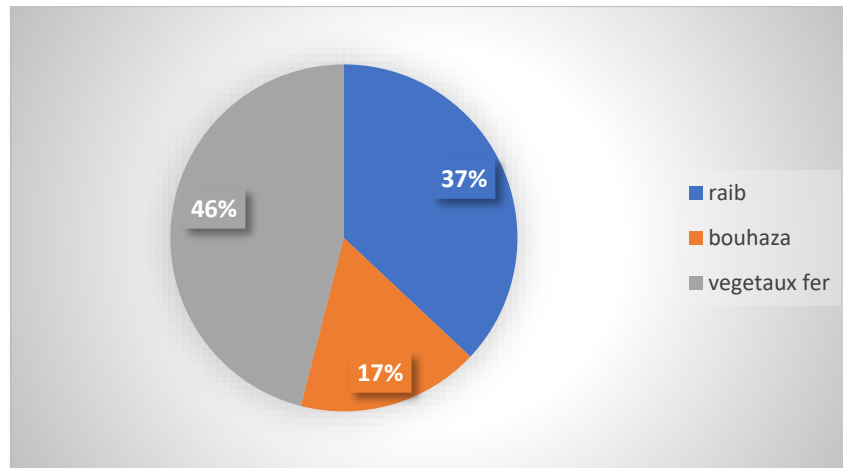
**Tableau 03** : présente le profil physiologique et biochimique des isolats

Souche	Gram	Forme	Crois à 10°	Crois à 30°	Crois à 45°	Type fermentaire	Catalase	Genre suspect
<b>Cb23</b>	+	cocobacille	+	/	+	Homo	-	<i>Lactobacillus</i> <i>Carnobacterium</i>
<b>Cb5</b>	+	cocobacille	+	+	+	Homo	-	<i>Lactobacillus</i> <i>Carnobacterium</i>
<b>Cb232</b>	+	cocobacille	+	+	-	Homo	-	<i>Lactobacillus</i> <i>Carnobacterium</i>
<b>En4</b>	+	Cocci ovale	+	/	+	Homo	-	<i>Enteococcus</i>
<b>En13</b>	+	Cocci ovale	+	+	+	Homo	-	<i>Enteococcus</i>
<b>En14</b>	+	Cocci ovale	+	/	-	Homo	-	<i>Enteococcus</i>
<b>B6</b>	+	Bacille	+	+	-	Homo	-	<i>Lactobacillus</i>
<b>En2</b>	+	Cocci ovale	+	+	-	Homo/hétéro	-	<i>Enteococcus</i>
<b>En8</b>	+	Cocci ovale	+	+	-	Homo	-	<i>Enteococcus</i>
<b>Cb6</b>	+	cocobacille	+	+	-	Homo	-	<i>Lactobacillus</i> <i>Carnobacterium</i>
<b>Cb3</b>	+	cocobacille	+	+	-	Homo	-	<i>Lactobacillus</i> <i>Carnobacterium</i>
<b>Cb2</b>	+	cocobacille	+	+	-	Homo	-	<i>Lactobacillus</i> <i>Carnobacterium</i>
<b>En3</b>	+	Cocci ovale	-	+	-	Homo	-	<i>Enteococcus</i>
<b>En1</b>	+	Cocci ovale	+	+	-	Homo	-	<i>Enteococcus</i>
<b>Cc1</b>	+	Cocci	+	/	+	Homo	-	<i>Lactobacillus</i> <i>Carnobacterium</i>
<b>En15</b>	+	Cocci ovale	/	+	/	Homo	-	<i>Enteococcus</i>
<b>B3</b>	+	Bacille					-	<i>Lactobacillus</i>
<b>Cc76</b>	+	Cocci	+	+	+	Homo hétéro	-	<i>Lactobacillus</i> <i>Carnobacterium</i>
<b>Cc3</b>	+	Cocci	+	+	+	Homo hétéro	-	<i>Lactobacillus</i> <i>Carnobacterium</i>
<b>Cb15</b>	+	cocobacille	/	+	/	Hétéro	-	<i>Lactobacillus</i> <i>Carnobacterium</i>
<b>Cb13</b>	+	cocobacille	/	+	/	Hétéro	-	<i>Lactobacillus</i> <i>Carnobacterium</i>
<b>Cb16</b>	+	cocobacille	/	+	/	Hétéro	-	<i>Lactobacillus</i> <i>Carnobacterium</i>
<b>B13</b>	+	Bacille	/	+	/	Hétéro	-	<i>Lactobacillus</i>
<b>En142</b>	+	Cocci ovale		+		Homo F	-	<i>Enteococcus</i>

## RESULTATS ET DISCUSSION

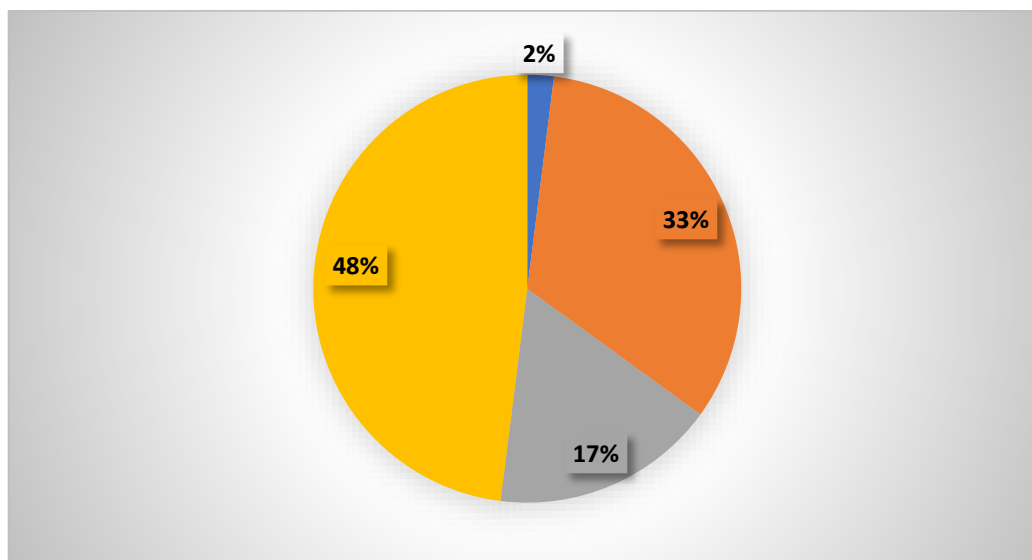
<b>Cc40</b>	+	Cocci	+	+	+	Homo	-	<i>Lactobacillus Carnobacterium</i>
<b>Cc92</b>	+	Cocci	+	+	+	Homo hétéro	-	<i>Lactobacillus Carnobacterium</i>
<b>Cc5</b>	+	Cocci	+	+	+	Homo hétéro	-	<i>Lactobacillus Carnobacterium</i>
<b>E14</b>	+	Cocci ovale	+	+	+	Homo	-	<i>Enteococcus</i>
<b>B125</b>	+	Bacille	+	+	+	Hétéro	-	<i>Lactobacillus</i>
<b>Cb14</b>	+	cocobacille	+	+	-	Homo	-	<i>Lactobacillus Carnobacterium</i>
<b>B8</b>	+	Bacille	+	+	+	Homo	-	<i>Lactobacillus</i>
<b>En31</b>	+	Cocci ovale	-	+	-	Homo	-	<i>Enteococcus</i>
<b>B5</b>	+	Bacille	+	+	+	Homo	-	<i>Lactobacillus</i>
<b>En41</b>	+	Cocci ovale	+	+	+	Homo	-	<i>Enteococcus</i>
<b>Cb92</b>	+	Bacille ovale	+	+	-	Hétéro	-	<i>Lactobacillus Carnobacterium</i>
<b>En23</b>	+	Cocci ovame	+	/	-	Homo	-	<i>Enteococcus</i>
<b>Cb62</b>	+	cocobacille	+	+	+	Homo	-	<i>Lactobacillus Carnobacterium</i>
<b>B14</b>	+	Bacille	+	+	+	Homo	-	<i>Lactobacillus</i>
<b>En36</b>	+	Cocci ovale	+	+	+	Hétéro homo	-	<i>Enteococcus</i>
<b>Cb51</b>	+	cocobacille	+	+	+	Homo	-	<i>Lactobacillus Carnobacterium</i>
<b>Cb47</b>	+	cocobacille	+	+	-	Homo	-	<i>Lactobacillus Carnobacterium</i>
<b>En42</b>	+	Cocci ovale	+	+	+	Hétéro homo		<i>Enteococcus</i>
<b>Cb61</b>	+	cocobacille	+	+	+	Homo		<i>Lactobacillus Carnobacterium</i>
<b>B24</b>	+	Bacille	+	+	+	Homo	-	<i>Lactobacillus</i>
<b>Cb10</b>	+	cocobacille	+	+	-	Hétéro homo	-	<i>Lactobacillus Carnobacterium</i>
<b>S1</b>	+	Cocci ronde	+	+	-	Homo	-	<i>Lactococcus</i>

## RESULTATS ET DISCUSSION



**Figure 06** : Secteur représentative de la répartition des BL selon le type d'échantillon

A partir de tests d'identification phénotypique, les 46 souches lactiques appartiennent aux *Enterococcus*, *Lactococcus*, ou aux BL bacillaire (*Lactobacillus* ou *Carnobacterium*). (Figure 07).



**Figure 07** : Secteur représentative de la répartition des BL en fonction du genre

La répartition des BL varie d'un échantillon à un autre. A partir du (Figure 06), la microflore lactique isolée était majoritairement issue des végétaux fermentés « Mraged de piment (E6) » avec une dominance des Bacilles. La préparation traditionnelle des végétaux fermentés —mraed" peut avoir un impact sur sa composition chimique et biologique. Du fait qu'aucune bactérie starter n'est ajoutée à la préparation, la microflore du "Mraged" est à l'origine de la matière première, comme c'est le cas des BL qui sont responsables de la fermentation des végétaux (Di Cango et al., 2013), on a utilisé 21 échantillons de végétaux fermentés pour isoler et caractériser les BL. Les *Coco Bacille* et *Bacille* étaient les plus répandus parmi les 46 isolats Gram positif.

La microflore des échantillons de —Raibl était caractérisée par une distribution presque égale d'*Enterococcus* et *Lactobacillus*. Ce produit laitier consomme frais, et fabriqué à partir de lait fermenté, obtenu par l'acidification naturelle du lait (**Leksir et al.,2019**). La dominance d'un type sur un autre varie selon le type de lait utilisé dans la préparation, et les conditions de fermentation (**Guetouache et Guessas.,2015**).

D'après autre étude présentée par (**Boultif et al.,2021**), une prédominance de *lactobacillus* a été observée de trois échantillons de raib, ce pendant le taux d' *Enterococcus* est nul. La distribution des genres dépend de BL provenant de lait fermenté artisanalement et dans la région dans laquelle ont produits.

Pour Bouhezza le fromage traditionnel affiné à pâte molle obtenue après la transformation du « Lben » à l'aide d'un « skinbag » ou « Chekoua » en peau de chèvre préalablement traitée au sel et au genévrier. L'égouttage, le salage et l'affinage « Bouhaza » sont effectués simultanément dans la « Chekoua » pendant une durée de 2 à 3 mois. (**leksir et al.,2019**), diverses études ont montré la dominance des BL dans son microbiote. **Medjoudj et al.,2020**), après avoir analysé la microflore de huit échantillons de Bouhaza produits dans les régions de Tébessa : Stah Gentisse, Aouinette, Messkiana et Souk Ahras. En découverte une prédominance entre les lactobacilles et Entérocoques. Dans la même veine, la recherche de (**Demirci et al., 2021**) a été révélé que les bactéries *Enterococcus* trouvés dans les échantillons de fromage affinés traditionnel cru qui sont fabriqués dans des sacs en peau de chèvre, sont indiquées variables où la période de maturation joue un rôle dans la distribution et la disparition des BL.

## II. Caractérisation biotechnologique des bactéries lactiques isolées

### 1. Activité acidifiante

L'activité acidifiante est l'une des principales fonctions des bactéries lactiques. Les résultats obtenus sont présentés dans les figures 10, 11, 12, 13, 14 et 15.

Sur la base de ces résultats, toutes les bactéries lactiques identifiées ont montré une production progressive d'acide lactique. Ceci s'accompagne d'une diminution du pH du milieu , Les résultats de 2 heures d'incubation, indiquent que le pH variait entre 6,41 et 6,95 , tandis que la quantité d'acide lactique produite variait entre 6,5 g et 12,9 g par litre de lait, et Après 4



## RESULTATS ET DISCUSSION

heures d'incubation , le PH variait entre 6,40 et 6,67 , en parallèle le volume d'acidité et variait entre 0,6 et 19,1 ; encore 6 heures d'incubation , le ph variait entre 6,24 et 6,59 , et la quantité d'acide lactique produite variait entre 4 et 14,8 ; Après 24 h d'incubation, ces valeurs de pH ont diminué et variaient entre pH 4,41 et 5,73, entraînant une production d'acide lactique dans des quantités comprises entre 3,7 g/L et 33,9 g/L.

**Figure 08** : représente les mesures de pH par le pH mètre



**Figure 09** : Les flacons de lait avant et après le titrage par la soude

Les genres *Enterococcus*, *Lactobacillus* et *Streptococcus*, étaient les plus acidifiés, avec des taux moyens d'acide lactique de 5,73 g/L, 4,43 g/L et 5,65 g/L et 4,70 g/L après 24 heures d'incubation. Produisent jusqu'à 29 g/L d'acide lactique. Les coccobacilles après 24 heures d'incubation. Pendant ce temps, les valeurs de pH obtenues avec ces souches variaient de pH 5,74 à 4,41. Et le volume de soude ajouté variait entre 33,9 g/L et 10,1 g/L. La souche Cb<sub>5</sub> produit en moyenne 33,9 g/L d'acide lactique. La cinétique d'acidification a montré que coccobacille. Bactérie diacétyle lactiques, les *Enterococcus* et les *Lactobacillus* crémeurs étaient moins acides et produisaient des quantités variables d'acide lactique.



## RESULTATS ET DISCUSSION

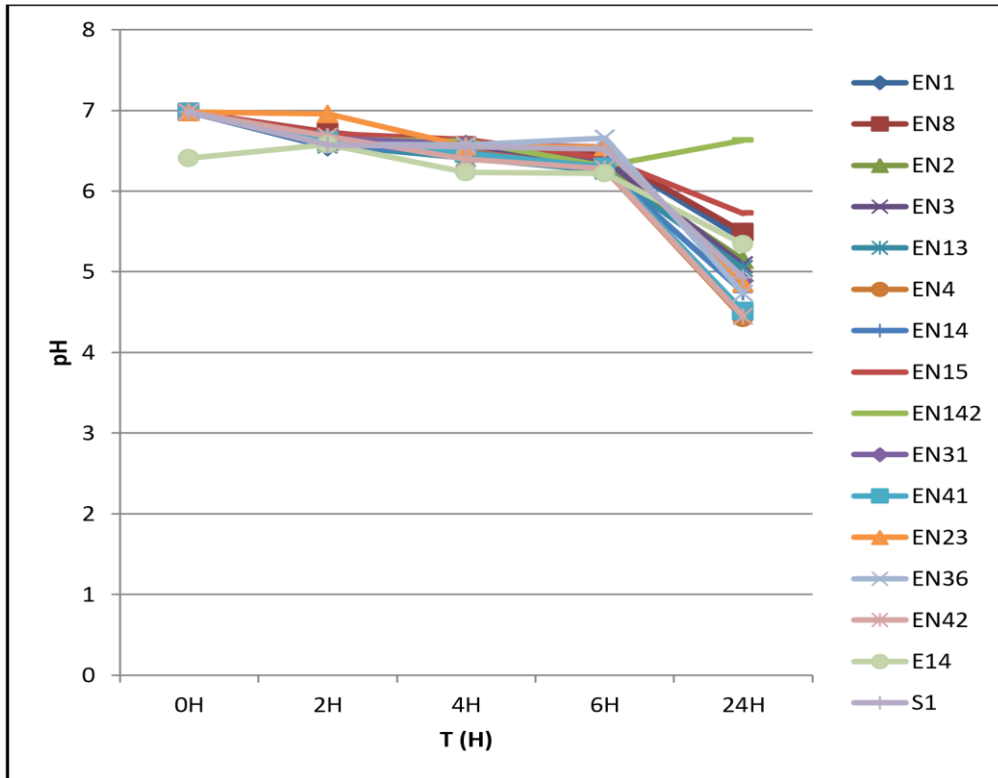


Figure 10 : le pouvoir acidifiant des Entérocooccus et les streptococcus en fonction du temps

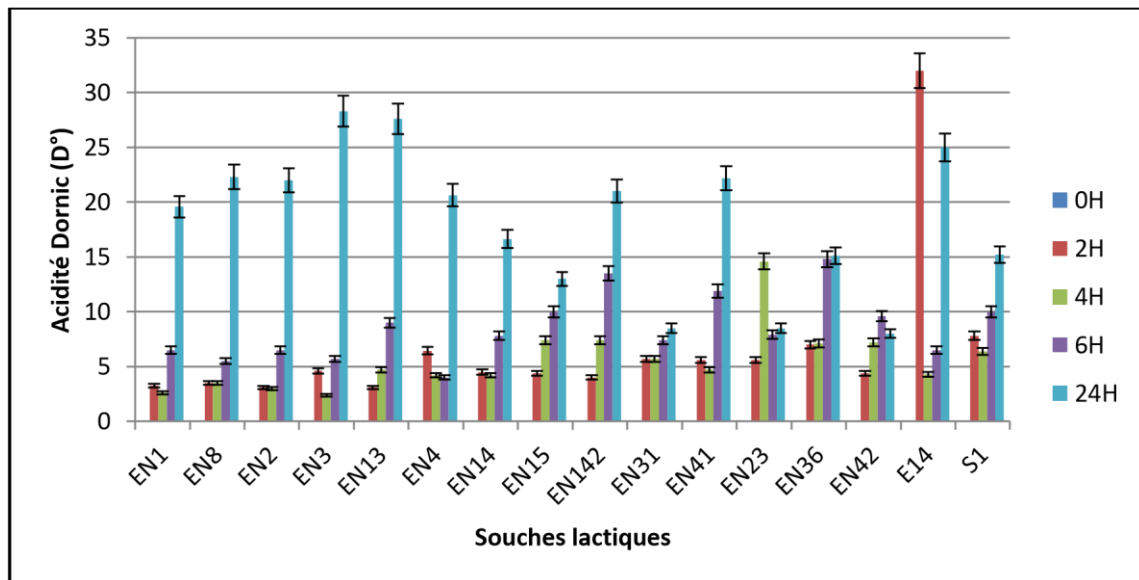
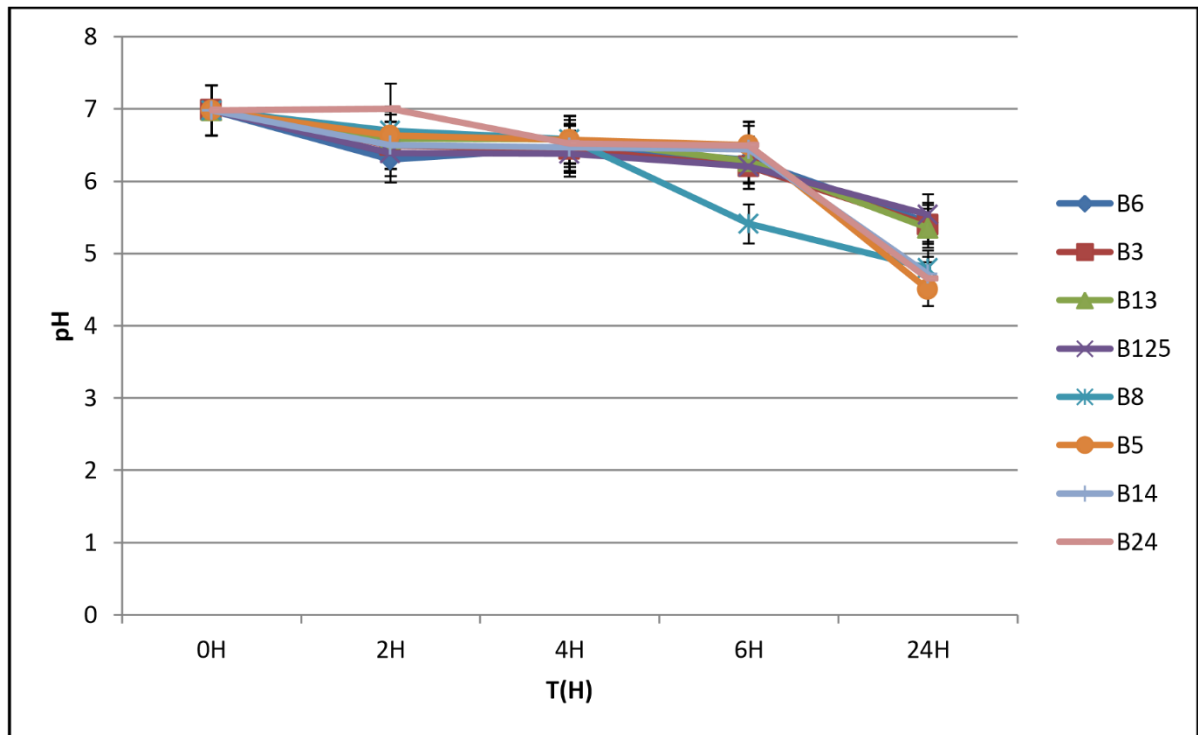


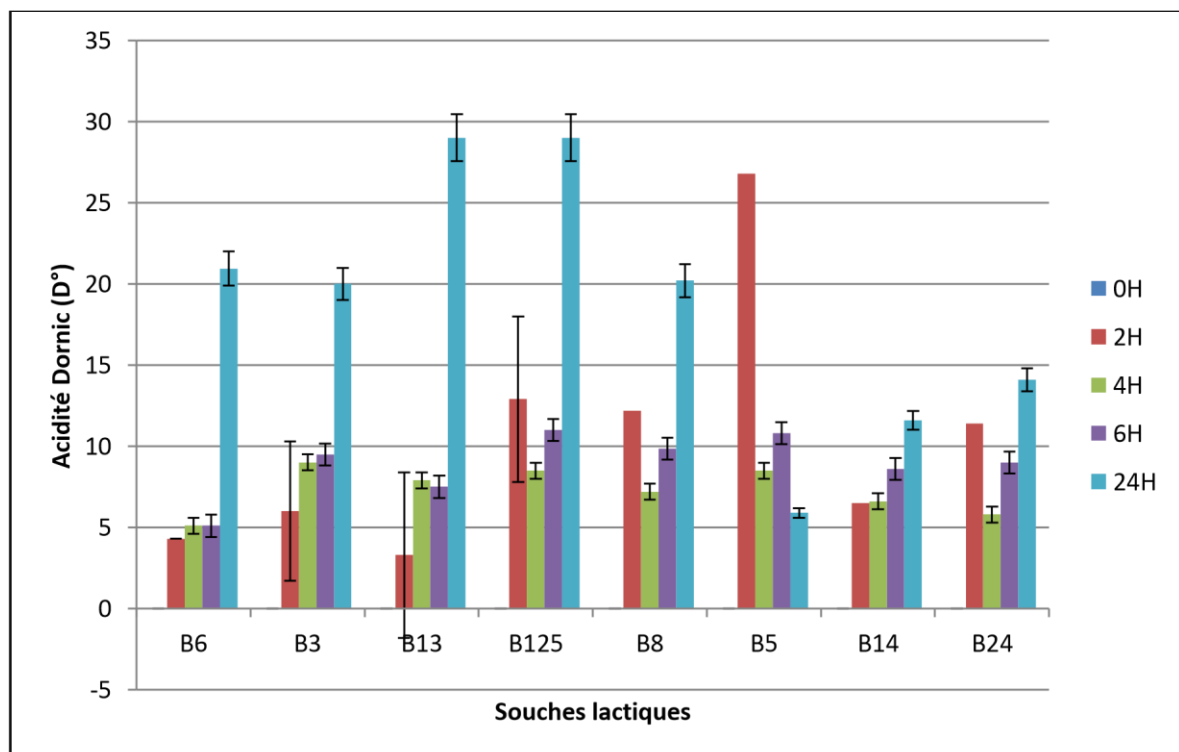
Figure 11 : production d'acide lactique par les souches Enterococcus et streptococcus

## RESULTATS ET DISCUSSION

En fonction du temps

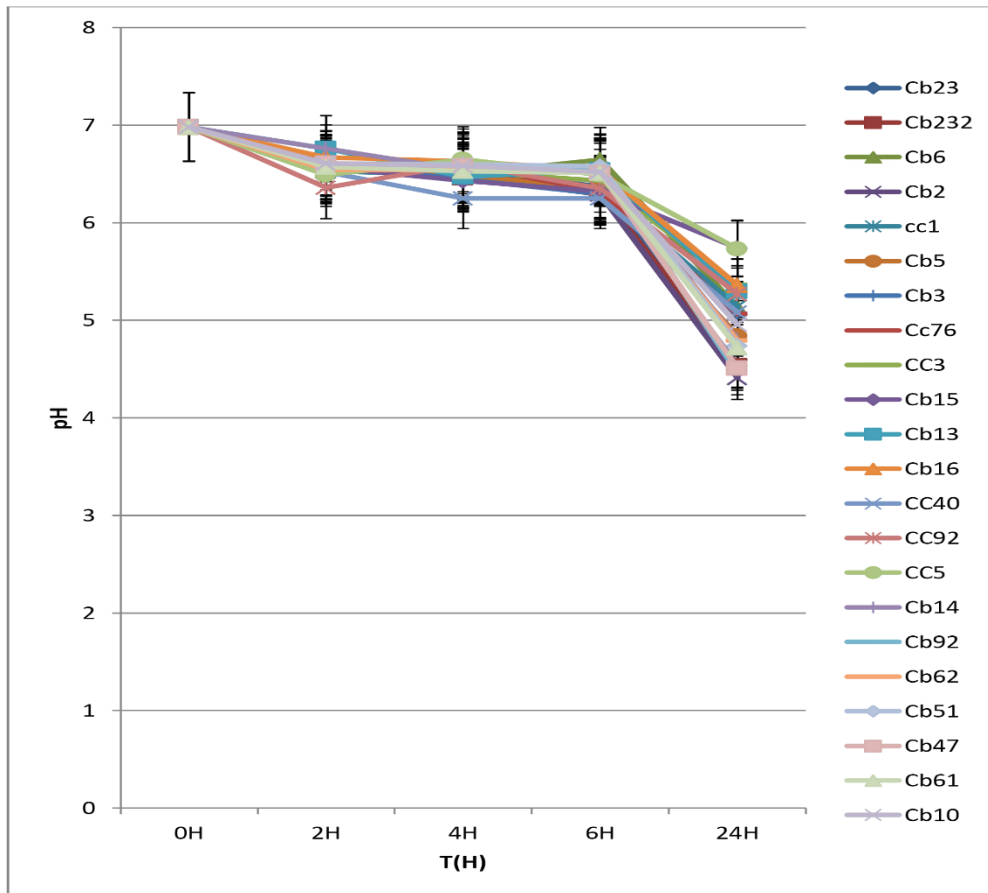


**Figure 12 :** le pouvoir acidifiant des bacilles en fonction du temps

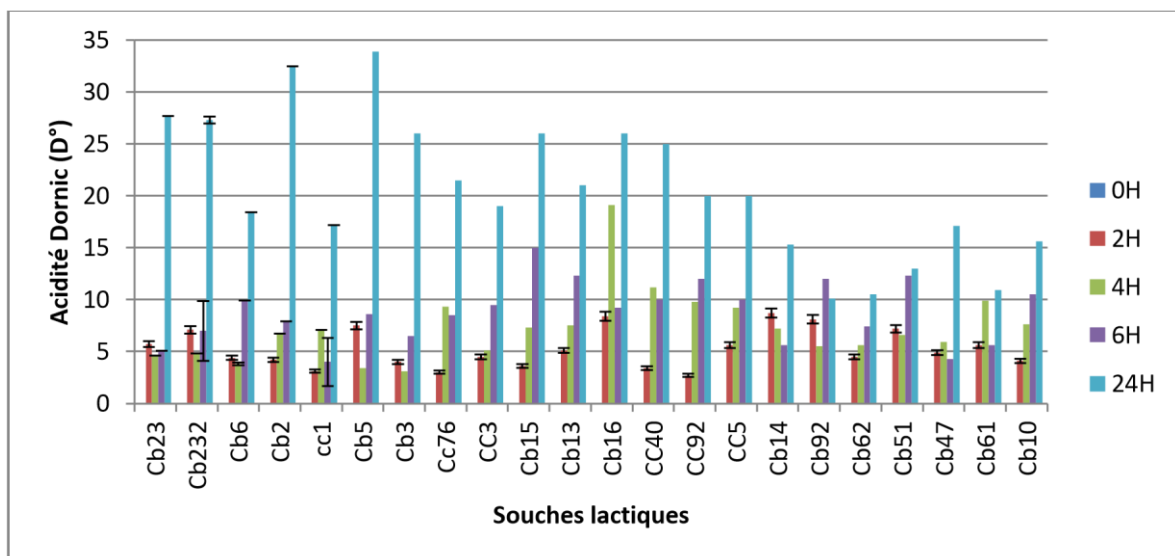


## RESULTATS ET DISCUSSION

**Figure 13 :** production de l'acide lactique par les bacilles en fonction du temps



**Figure 14 :** le pouvoir acidifiant des coccobacilles



**Figure 15 :** la production d'acide lactique par les coccobacilles

L'évolution des changements d'acidité et de pH au cours de la croissance des souches testées dans le lait écrémé a montré des différences entre les genres, l'espèce et même les

souches d'une même espèce, un fait scientifique et logique rapporté par **Luquet et Corrieu (2005)**

Nos résultats ne se concordent pas à ceux de **Metrouh, R (2022)** ; La production d'acide lactique des bactéries lactiques, *Enterococcus* et *Lactobacillus* était de 2,1-5 g/L, 2-5 g/L et 3,1-4,7 g/L, respectivement après 2 heures de détection. Après 48 heures de test, les valeurs de *Lactobacillus*, *Enterococcus* et *Lactococcus* ont augmenté à 15,6 g/L, 13,5 g/L et 15,5 g/L, respectivement.

Et Ces résultats sont supérieurs aux valeurs maximales de 8,7 g/l et 8,6 g/L obtenues par **Getouche et al., (2015)** et **Ketrouci et al., (2021)** sur l'isolement de souches d'acide lactique, respectivement, à partir de produits laitiers récoltés dans le nord-ouest de l'Algérie.

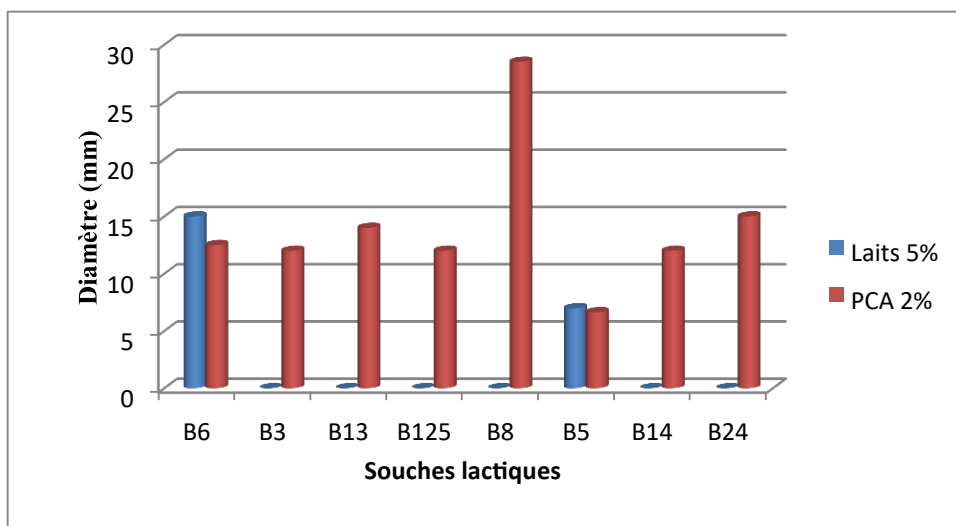
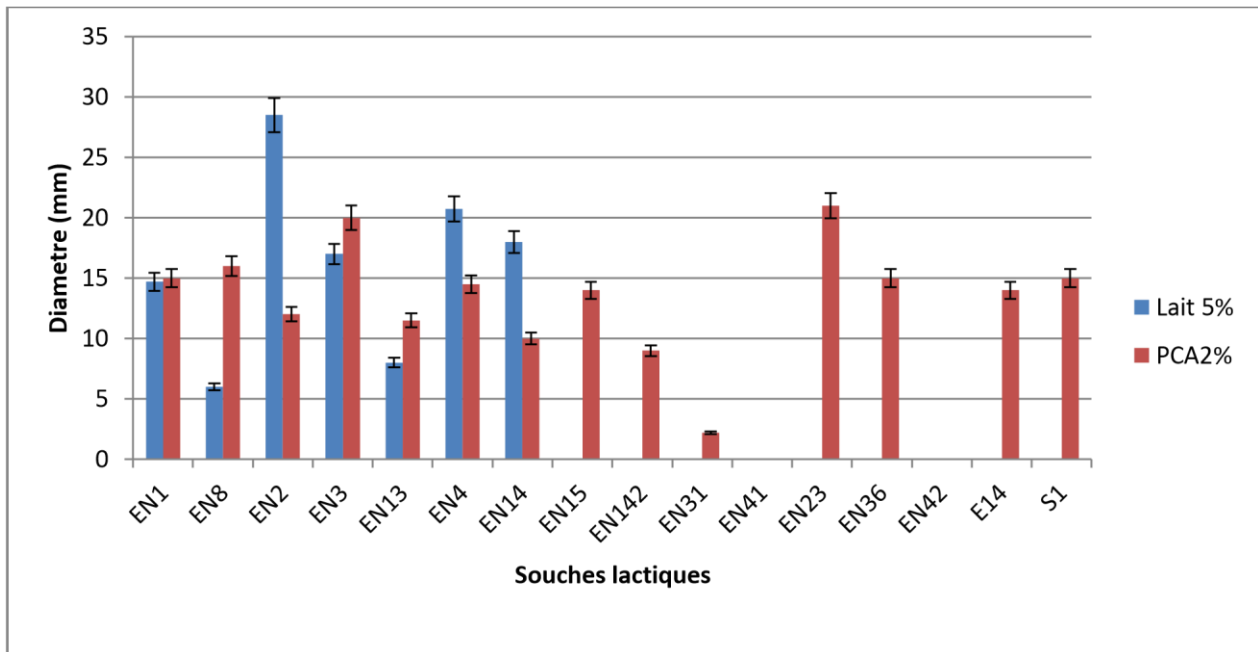
### 2. Activité protéolytique

L'activité protéolytique des bactéries lactiques est essentielle pour leur croissance dans le lait ainsi que pour le développement des propriétés organoleptiques des différents produits laitiers (**Savoy et Hébert., 2001 ; Hassaine et al., 2007**).

Selon **Vuillemard., (1986)**, une souche est considérée comme protéolytique si elle possède une zone de diamètre 5-15 mM. Par rapport à ces données, nos souches sont protéolytiques, le diamètre de la zone protéolytique était de 5 à 35 mM sur un milieu lait écrémé solide et de 9 – 29 mM sur PCA + Lait écrémé après une incubation de 48H à 30°C.

Il apparaît clairement que le genre *Lactobacillus* est fortement protéolytique comparativement aux autres genres selon les figures 16, 17 et 18 :

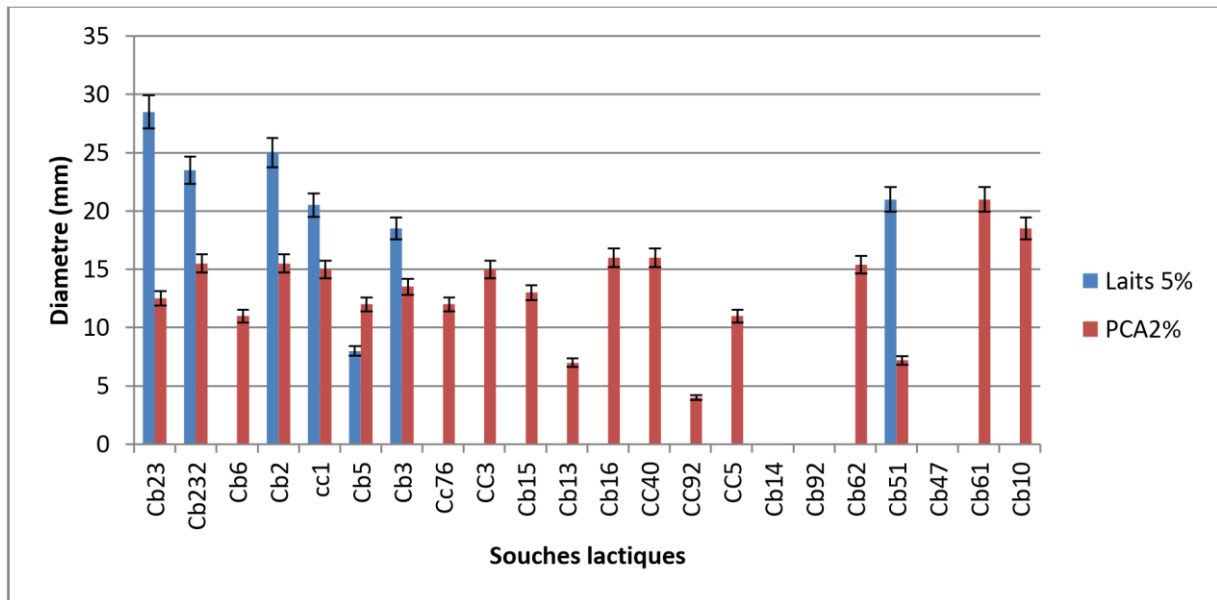
## RESULTATS ET DISCUSSION



**Figure 16 :** résultats de protéolyse des souches entérocoques et streptococcus

**Figure 17 :** résultats de protéolyse des Bacilles

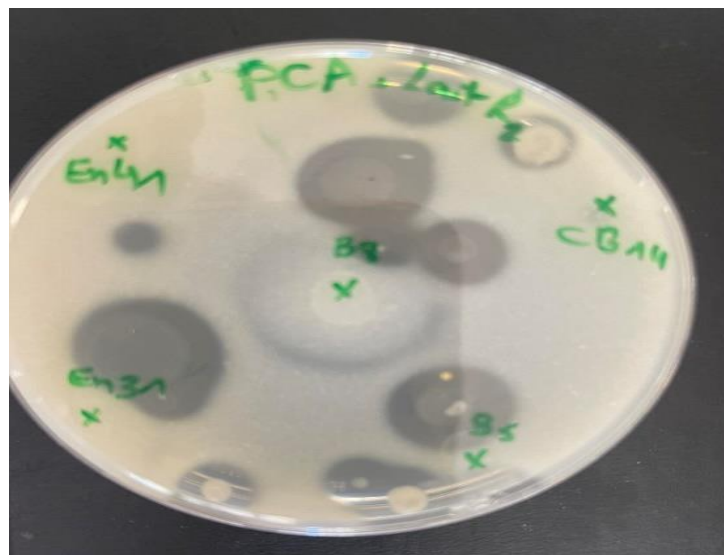
## RESULTATS ET DISCUSSION



**Figure 18 :** le diamètre de zones de protéolyse des souches coccobacilles

Ces résultats sont supérieurs aux valeurs maximales obtenues par (Hadeif Sawsen.,2012) sur l'isolement de souches d'acide lactique à partir de produits laitiers.

Il apparaît clairement que la souche Cb<sub>23</sub> est fortement protéolytique comparativement aux autres souches avec un diamètre de 34 mm sur un milieu MRS +Lait solide ;tout en diminuant sur le milieu PCA + Lait écrémé, suivi par la souche CB232 avec des zones d'hydrolyse de 33mm.CB2 , EN4 , EN2ont montré des diamètres de 30mm,25 mm et 20 mm respectivement Répartir entre R1 et R2 .alors que la souche CB 5 est jugée la moins protéolytique avec un diamètre de 5- 8mm sur le lait écrémé solide et la souche EN14 sur le milieu PCA + Lait solide .Devant tes résultats on peut dire que le milieu MRS + lait écrémé solide est le plus adapté pour l'activité protéolytique des bactéries lactiques.



**Figures 19** : Photos représentatives de l'activité protéolytique de quelques BL isolées.

Les diamètres des zones de protéolyse des souches testées sur le lait écrémé solide et PCA + lait écrémé démontrent une différence entre les genres, et même entre les répétitions d'un même genre.

### 3. Activité lipolytique

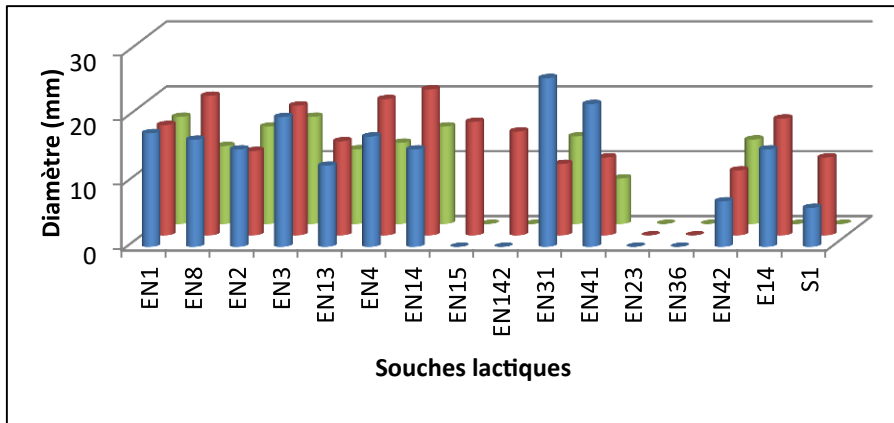
L'une des transformations biochimiques majeures que la BL effectue tout au long de la fermentation est la destruction de la matière grasse du lait par lipolyse. Cette dégradation produit de l'alcool et des acides gras libres, qui affectent grandement la saveur du produit fini. (Chen et al., 2017). L'activité lipolytique des isolats lactiques a été déterminée dans un milieu MRS supplémenté d'une source lipidique naturelle (huile d'olive ou beurre) et artificielle (tween 80), à différentes concentrations (1%, 3%, 5%), la source lipidique naturelle : Huile d'olive fournissant le niveau d'activité le plus élevé à différentes doses.

L'activité lipolytique se manifeste par l'apparition d'un halo clair autour des colonies comme montrée dans la Figure. Le milieu MRS est opacifié par 0,5% de carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ) afin de bien visualiser une éventuelle présence d'activité, additionné de 0.01%  $\text{CaCl}_2$  et 0.5%  $\text{NaCl}$  pour la source artificielle

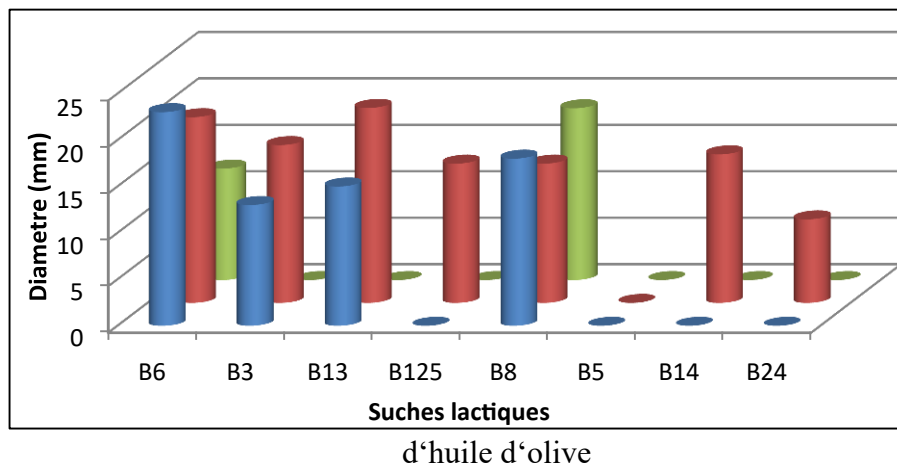
Selon Sharma et al., (2001), la période d'incubation pour la détection de l'activité est un facteur limitant, puisque la destruction, par exemple, d'huile d'olive augmentait considérablement pendant la phase stationnaire. Dans le travail actuel, 2-4 jours était la période recommandée pour l'apparition de zones claires indiquant une activité positive pour les sources lipidiques naturelles et 7-10 jours pour la source artificielle.

- Les résultats obtenus pour les souches testées varient d'un substrat à un autre et d'une concentration à une autre et même d'un genre à un autre.
- **Huile d'olive :**
  - Les entérocoques et les coccobacilles montrent une activité lipolytique significative en présence de 3% d'huile d'olive par rapport aux autres concentrations respectivement 1% et 5% et aux lactobacilles comme montre les figures 19, 20 et 21.
  - Les souches codées En23, En36, B5, Cb92, Cb62, Cb51 ne présentent aucune activité lipolytique sur l'huile d'olive

## RESULTATS ET DISCUSSION



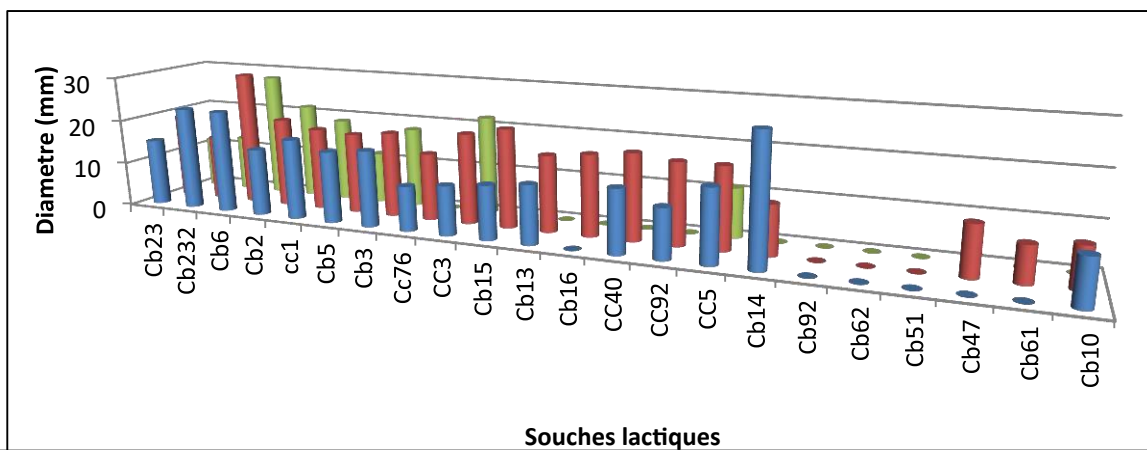
**Figure 19 :** L'activité lipolytique des entérocoques sur MRS additionné de 1% 3% et 5%



**Figure 20 :** L'activité lipolytique des Bacille sur MRS additionné de 1% 3% et 5% d'huile d'olive

**Figure 21 :** L'activité lipolytique des coccobacilles sur MRS additionné de 1% 3% et 5% d'huile d'olive

Ces résultats concordent avec celles de **Metrouh.R(2022)** qui ont révélé que le membres du genre *Lactobacillus* ont dégradés l'huile d'olive ajoutée au milieu MRS à un taux plus élevé à la concentration de 3%, Ceci est similaire aux recherches de **Guan et al., (2020)** qui ont révélé que l'activité lipolytique des souches "*Lb. casei* f1, *Lb. paracasei* f2 et *Lb. paracasei* f3" montrait une activité lipasique claire lorsque l'huile d'olive était utilisée comme





## RESULTATS ET DISCUSSION

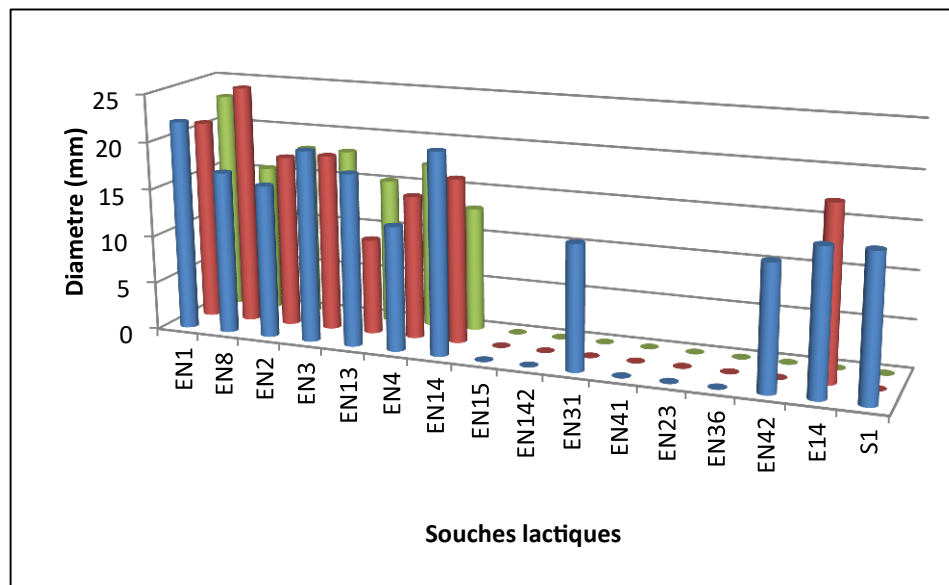
substrat sans influence de la concentration.

Selon (Rahmati, 2018), seules 14 des 37 souches de *Lactococcus* ont montré une activité lipasique d'intensité plus ou moins faible, ce qui contredit nos résultats, qui montrent que la plupart des souches de *Lactococcus* ont une forte activité de dégradation des lipides, notamment dans l'huile d'olive ; Cette observation peut s'expliquer par le fait que la lipase est inductible et préfère dégrader les acides gras mono-insaturés à longue chaîne comme l'acide oléique, qui constitue 78% de l'huile d'olive (Dellali et al., 2020). Ceci est conforme aux conclusions de (Dhaisne et al., 2013) qui a découvert que *Lactococcus* est un genre qui génère des produits chimiques volatils à partir de la dégradation des matières grasses du lait.

### Beurre :

- Les entérocoques et les coccobacilles montrent une activité lipolytique importante en présence de 1% de beurre par rapport aux autres concentrations et aux lactobacilles comme montre les figure 22, 23 et 24.

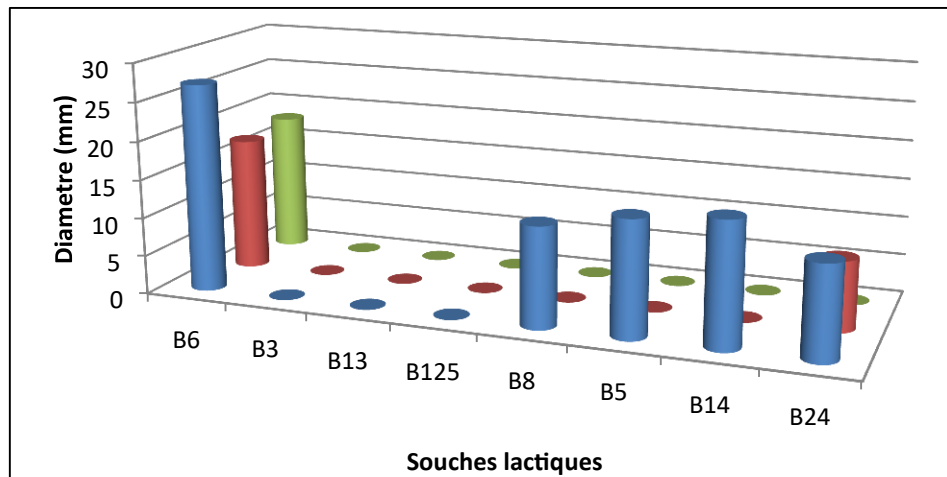
- Les souches EN<sub>15</sub> EN<sub>23</sub> EN<sub>142</sub> EN<sub>36</sub> EN<sub>41</sub> parmi les entérocoques qui n'ont pas présentés une activité lipolytique sur le milieu MRS + Beurre comme Les lactobacille B<sub>3</sub> B<sub>13</sub>



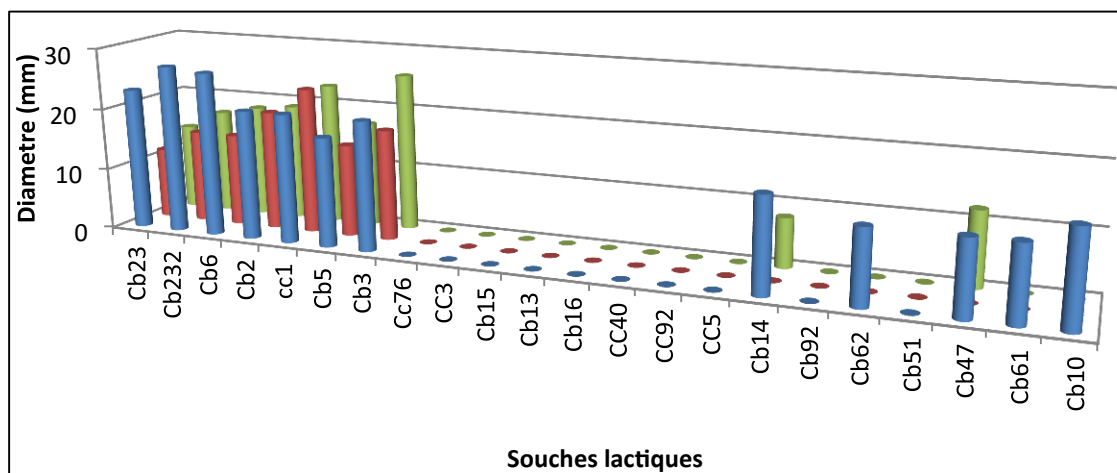
B<sub>125</sub> Cc<sub>76</sub> Cc<sub>3</sub> Cc<sub>40</sub> Cc<sub>92</sub> Cc<sub>5</sub> Cb<sub>16</sub> Cb<sub>15</sub> Cb<sub>13</sub> qui ont montré le même résultat

**Figure 22 :** L'activité lipolytique des entérocoques sur MRS additionné de 1% 3% et 5% de Beurre

## RESULTATS ET DISCUSSION



**Figure 23 :** L'activité lipolytique des bacilles sur MRS additionné de 1% 3% et 5% Beurre



**Figure 24 :** L'activité lipolytique des coccobacilles sur MRS additionné de 1% 3% et 5% de Beurre

Ces résultats sont cohérents avec ceux obtenus par **Meyers et al., (1996)**. Ces auteurs ont montré que les souches *Lactococcus lactis ssp lactis* C2, et 1835 et *Lactococcus lactis ssp hordniae* 2181, 2182 et 2183 que chez les souches de *Lactobacillus sp. LC10 et 1985* ou *Lactobacillus casei 3532*. On remarque aussi que les souches lactiques dégradent, pratiquement de la même manière, les deux substrats naturels beurre et huile d'olive avec une préférence pour l'huile d'olive

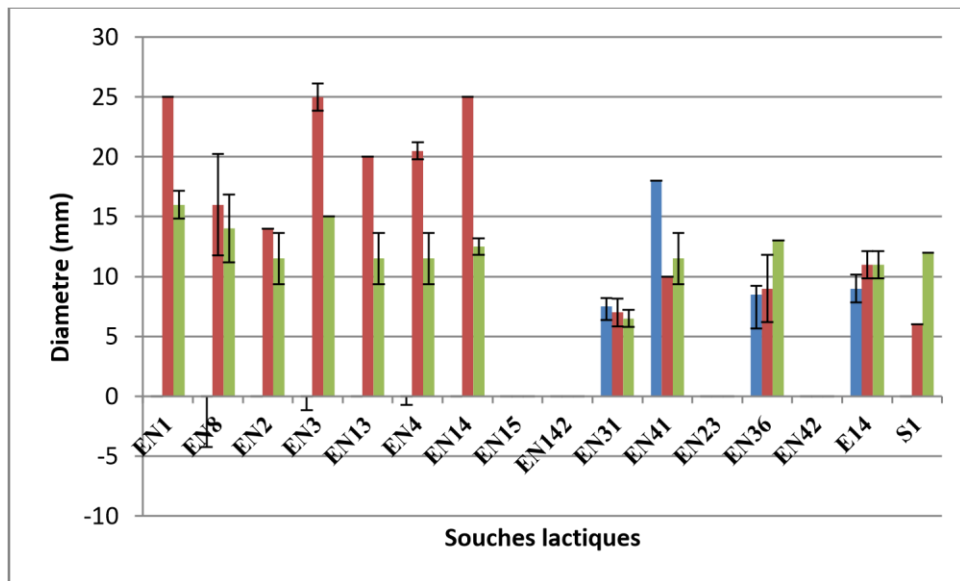
- **Tween 80**

Sur milieu MRS supplémenté de Tween 80, un halo opaque autour des colonies indique une activité lipolytique, ce halo est dû à la précipitation des sels de calcium des acides gras (**Guiraud et Galzy, 1980**).

- Par contre à la lipolyse des sources lipidiques naturelles huile d'olive et beurre les entérocoques ont montré une activité lipasique d'intensité plus ou moins faible que celles des coccobacilles et les bacilles

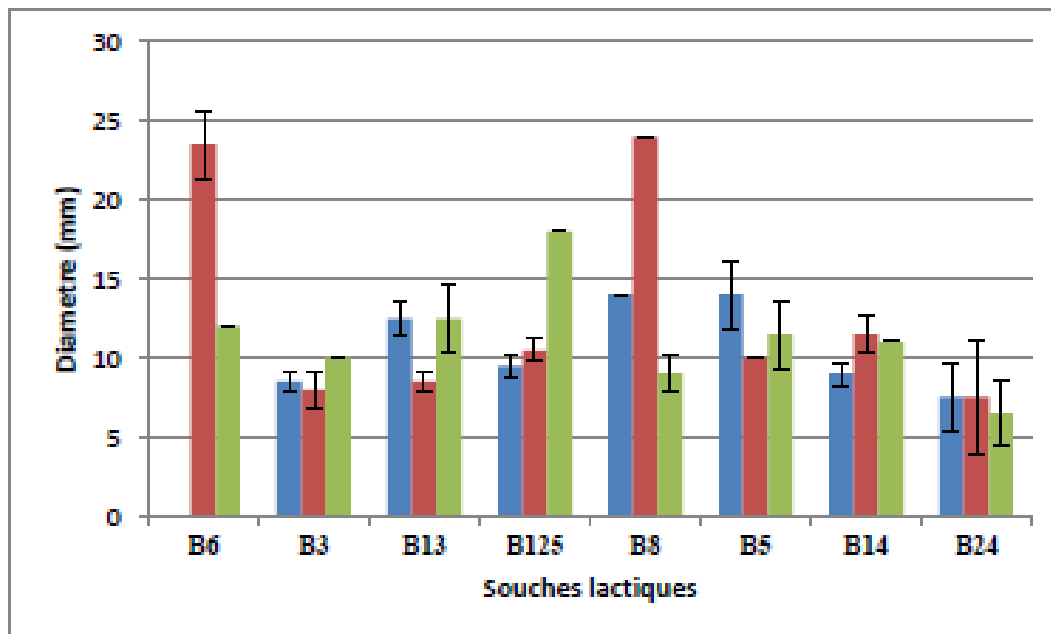
## RESULTATS ET DISCUSSION

- 3% de tween additionné été la concentration la plus adaptée pour les souches testées
- Les souches codées En<sub>15</sub>, En<sub>142</sub>, Cb<sub>16</sub>, Cb<sub>51</sub> ne présentent aucune activité lipolytique sur



le milieu MRS + Tween80

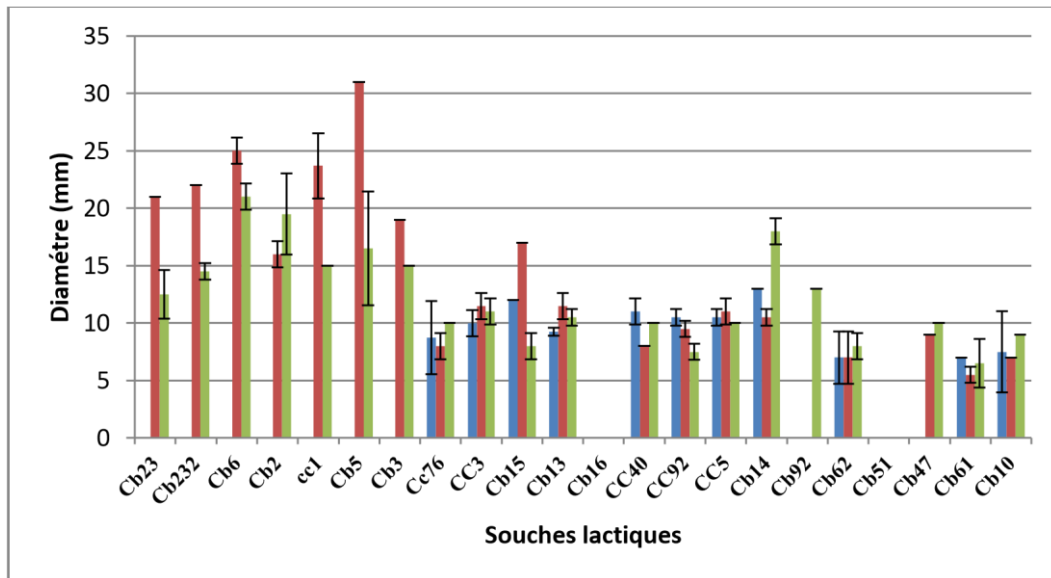
**Figure 25 :** L'activité lipolytique des entérocoques sur MRS additionné de 1% 3% et 5% de



tween80

**Figure 26 :** L'activité lipolytique des Bacilles sur MRS additionné de 1% 3% et 5% de tween80

## RESULTATS ET DISCUSSION

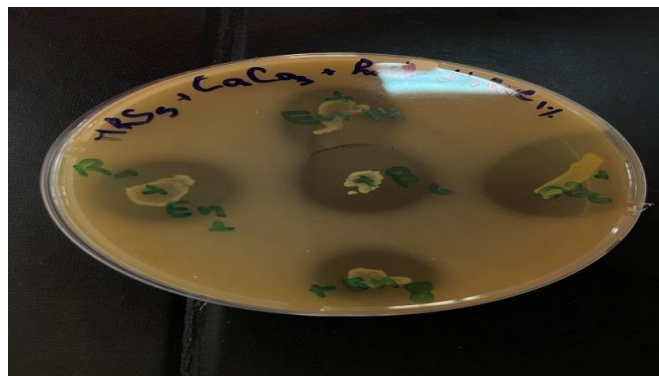
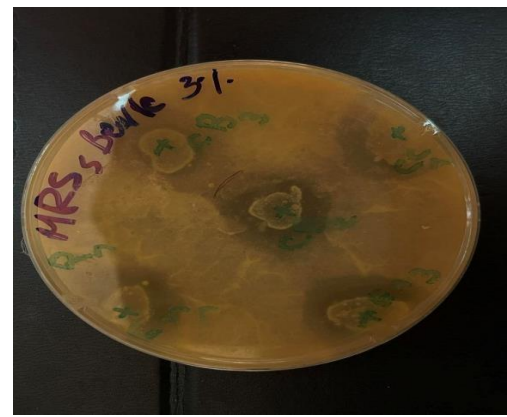
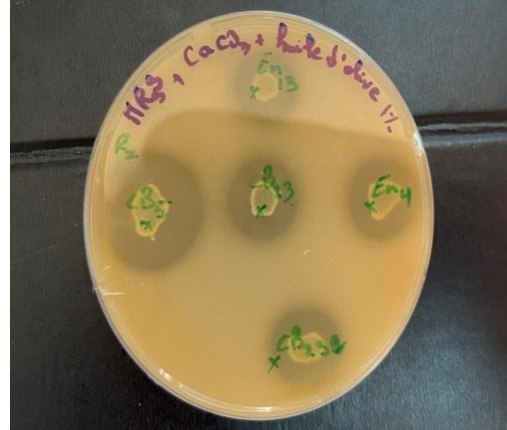
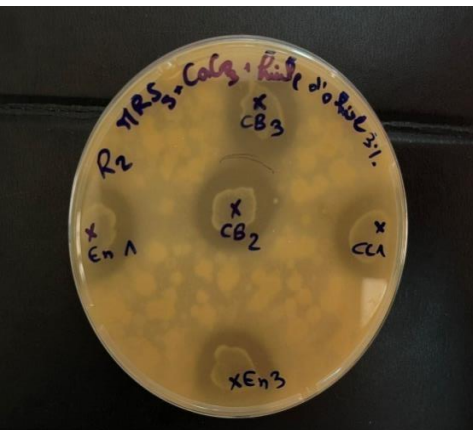


**Figure 27 :** L'activité lipolytique des coccobacilles sur MRS additionné de 1% 3% et 5% de tween80

Nos résultats désaccord celles de **Metrouh.R(2022)** et de **(Dellali et al., 2020)**, qui ont constaté que l'activité lipase des bactéries lactiques testées avec du tween 80 était faible à toutes les concentrations.

Plusieurs recherches ont indiqué que les bactéries lactiques sont classées comme des micro-organismes faiblement lipolytiques par rapport aux champignons ou *Bacillus* spp et *Pseudomonas* pp. Les micro-organismes, qui sont les principales sources de lipase industrielle **Guan et al.,(2020)**. Nos isolats lactiques ont une excellente activité lipolytique en utilisant des sources lipidiques naturelle et artificielle ce qui les qualifiées comme une source unique de lipases.

## RESULTATS ET DISCUSSION



## RESULTATS ET DISCUSSION

**Figure 28** : Résultats des boîtes indiquent l'activité lipolytique positive de quelques isolats par des zones claires

### 4. Activité texturante

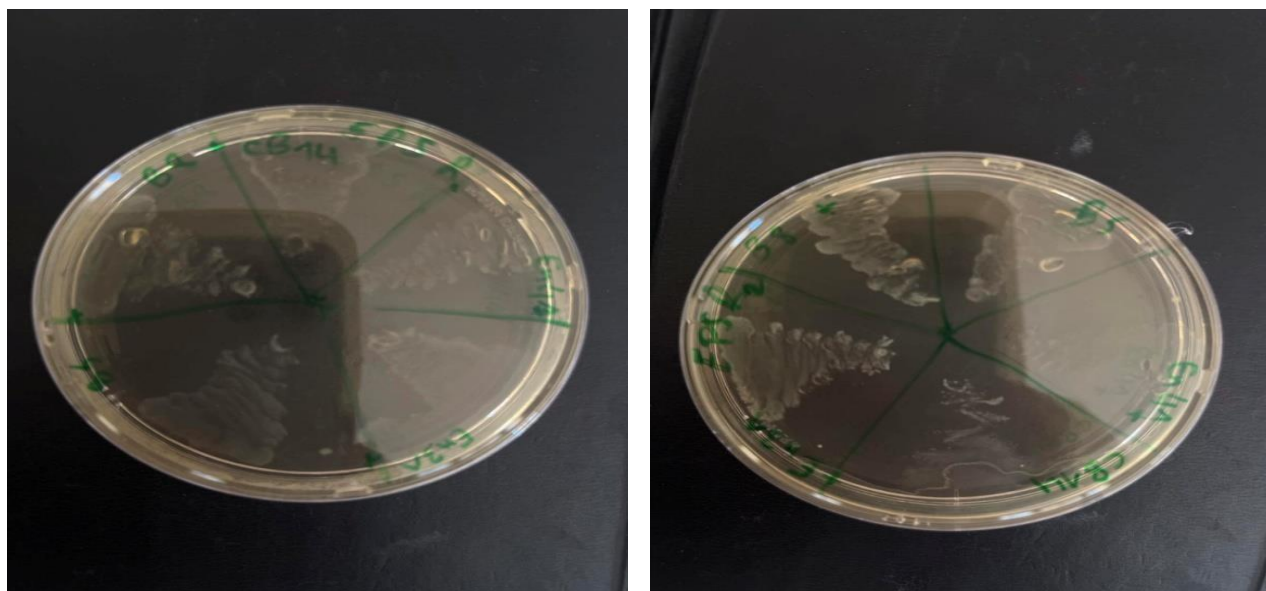
Afin d'évaluer la capacité de production des EPS chez nos 46 souches ; leurs croissances sur gélose hypersaccharosé a été mise en évidence, et la production des exopolysaccharides est traduite par l'apparition de colonies larges et gluantes. Les résultats sont illustrés dans le tableau suivant :

**Tableau 04** : résultats de production des EPS et de diacétyle par les isolats lactiques après incubation 48h à 30C°

Souche	Activité texturants				Activité aromatisant
	Croissance		Colonies gluantes		
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	
<b>Cb23</b>	+	+	+	+	++
<b>Cb5</b>	+	+	+/-	+	++
<b>Cb232</b>	+	+	+	+	++
<b>En4</b>	+	+	+	+	+
<b>En13</b>	+	+	+	+	+
<b>En14</b>	+	+	-	+	+
<b>B6</b>	+	+	++	++	++
<b>En2</b>	+	+	+	+	+
<b>En8</b>	+	+	-	-	++
<b>Cb6</b>	+	+	++	++	++
<b>Cb3</b>	+	+	++	-	++
<b>Cb2</b>	+	+	+	+	+
<b>En3</b>	+	+	+	+	++
<b>En1</b>	+	+	+	+	+
<b>Cc1</b>	+	+	+	++	++
<b>E15</b>	+	-	-	-	+++
<b>B3</b>	+	-	-	-	+
<b>Cc76</b>	+	-	-	-	+
<b>Cc3</b>	+	-	+	-	+
<b>Cb15</b>	+	-	-	-	+
<b>Cb13</b>	+	-	-	-	+++
<b>Cb16</b>	+	-	-	-	++
<b>B13</b>	+	-	++	-	+

## RESULTATS ET DISCUSSION

<b>E142</b>	+	-	-	-	++
<b>Cc40</b>	+	-	-	-	++
<b>Cc92</b>	+	-	+	-	+
<b>Cc5</b>	+	-	-	-	+
<b>E14</b>	+	-	+	-	++
<b>B125</b>	+	-	-	-	+
<b>Cb14</b>	+	+	+	++	++
<b>B8</b>	+	+	-	++	-
<b>En31</b>	+	+	++	++	+/-
<b>B5</b>	+	+	++	++	+
<b>En41</b>	+	+	++	+	++
<b>Cb92</b>	-	-	-	-	-
<b>En23</b>	-	-	-	-	++
<b>Cb62</b>	-	-	-	-	++
<b>B14</b>	-	-	-	-	-
<b>En36</b>	-	-	-	-	++
<b>Cb51</b>	-	-	-	-	++
<b>Cb47</b>	-	-	-	-	+
<b>En42</b>	-	-	-	-	++
<b>Cb61</b>	-	-	-	-	++
<b>B24</b>	-	-	-	-	++
<b>Cb10</b>	-	-	-	-	-
<b>S1</b>	-	-	-	-	+



**Figure 29 :** Photos représentatives de la production des Exopolysaccharides par quelques BL

La production d'EPS par les bactéries lactiques est un phénomène bénéfique dans de nombreux procédés alimentaires industriels. (**Walling et al.,2001**) Les principaux avantages de l'utilisation de BL productrices d'EPS dans les ferments lactiques lors de la production de lait fermenté sont une texture améliorée et une synérèse réduite. Il a été démontré que l'EPS produit par *St. Salivarius* et *St. Mutans* est impliqué dans la colonisation bactérienne et la formation de plaques (**Cerning.,1990**).

Les résultats montrent l'activité texturant de nos isolats lactiques, la majorité d'entre eux l'ayant 73.91% de ses souches peuvent se développer dans le milieu hypersaccharosé. Notant que le genre *Enterococcus* a la capacité la plus élevée 26.08% des souches productrices d'EPS suivie des BL bacillaires d'un pourcentage de 34.77% et les Cocci ont 13.04%. Tandis que 26.08% sont incapables de produire l'EPS.

Ce test a montré que toutes les souches étudiées à l'exception de *Streptococcus* codée S<sub>1</sub> et bactéries lactique bacillaires codée cb<sub>62</sub>, cb<sub>51</sub>, cb<sub>47</sub>, cb<sub>61</sub>, cb<sub>10</sub>, B<sub>14</sub> et B<sub>24</sub> et Entérocoques codée En<sub>23</sub>, En<sub>36</sub>, En<sub>42</sub> capables de se développer sur un milieu hypersaccharosé en formant des colonies à aspect plus ou moins gluant témoignant une production d'un agent épaississant,

Les résultats obtenu démontrent clairement une bonne croissance des souches sur le milieu hypersaccharosé et forte capacité des BL et des lactocoques à produire des EPS a été démontrée dans diverses études Ces observations rejoignent les travaux de **Jeong et al.,(2017)** ; **Neha et al.,(2019)** et **Pan et al.,(2010)**

### 5. Activité aromatisant

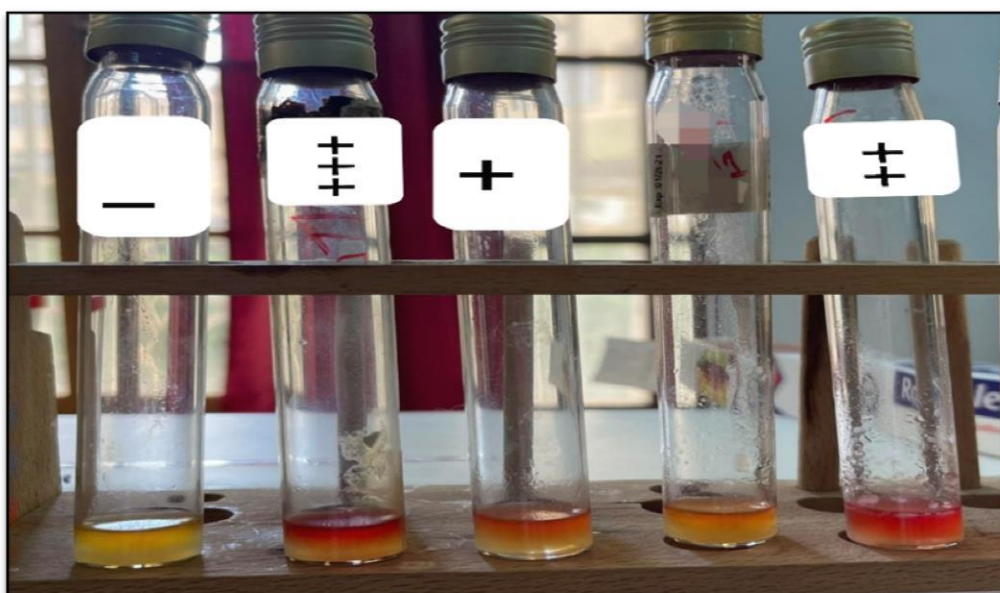
La production de composés d'arômes est une fonctionnalité technologique importante lors de l'élaboration des produits laitiers fermentés associée à une activité microbienne.



## RESULTATS ET DISCUSSION

Diverses espèces de bactéries lactiques sont capables de synthétiser divers composés, notamment à partir de citrate, comme le diacétyle, l'acétoïne, l'acétate, principaux composants responsables de l'arôme des produits laitiers fermentés. (Hammi , 2016).

L'existence d'un anneau rouge à la surface d'une culture lactique en milieu lait écrémé in vitro indique l'existence d'acétoïne et la synthèse possible de diacétyle (Figure 30), et c'est le cas dans notre étude, où le test VP est employé comme critère qualitatif indicateur de production. Les BL sont capables de produire de nombreuses composées aromatique à partir de différents substrats (pyruvate) qui participent aux qualités organoleptiques des produits fermentés (Raynaud et al., 2005 ; Cholet., 2006.).



**Figure 30** : Photo représentative de la capacité aromatique de quelques BL

Parmi les 46 souches testées, 91,4% ont été classées comme productrices d'arômes avec un niveau de production allant de faible moyen à intense (Tableau 04), les BL bacillaires (47.6%), *Enterococcus* (35,71%), Cocci (13,95%) et *streptococcus* (2,32%).

Selon le tableau, les souches appartenant au genre *Enterococcus* se caractérisent par une production intense. La majorité des souches isolées du végétal fermenté produisent de diacétyle, et celles avec le niveau de production le plus élevé sont du genre *Enterococcus* sont une forte influence sur les caractéristiques organoleptiques des échantillons (Albayrak et al., 2019). De nombreuses études publiées ont également démontré la capacité de genre *Enterococcus* à la production de diacétyle, dans une étude de (Metrouh 2022), cinq souches *Enterococcus* peuvent produire une quantité intense du diacétyle.

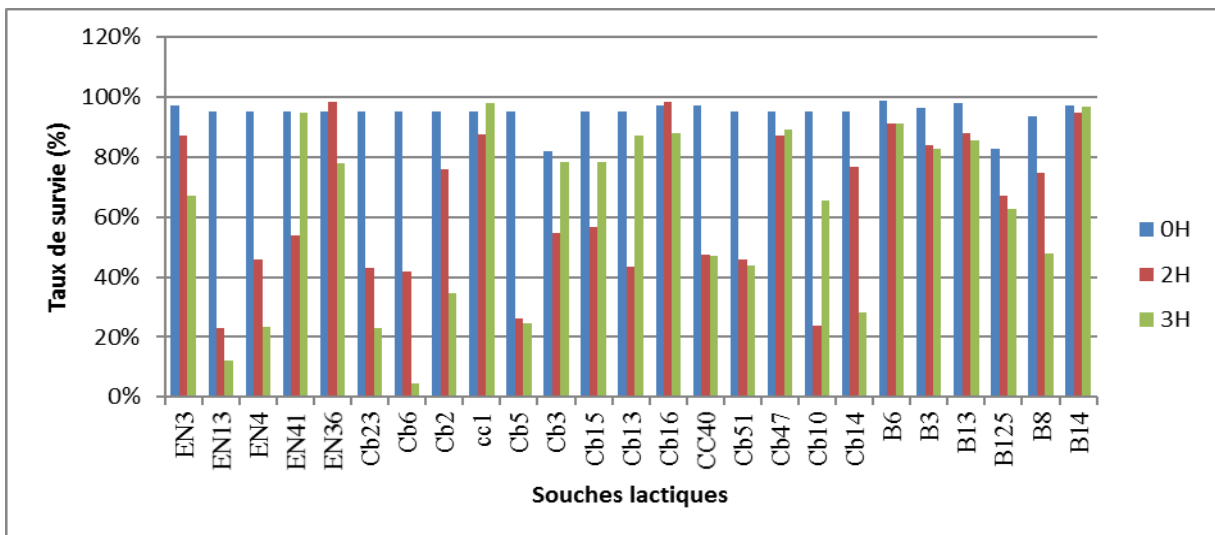
### III. Pouvoir probiotique des bactéries lactiques isolées :

## RESULTATS ET DISCUSSION

### 1. Résistance à l'acidité

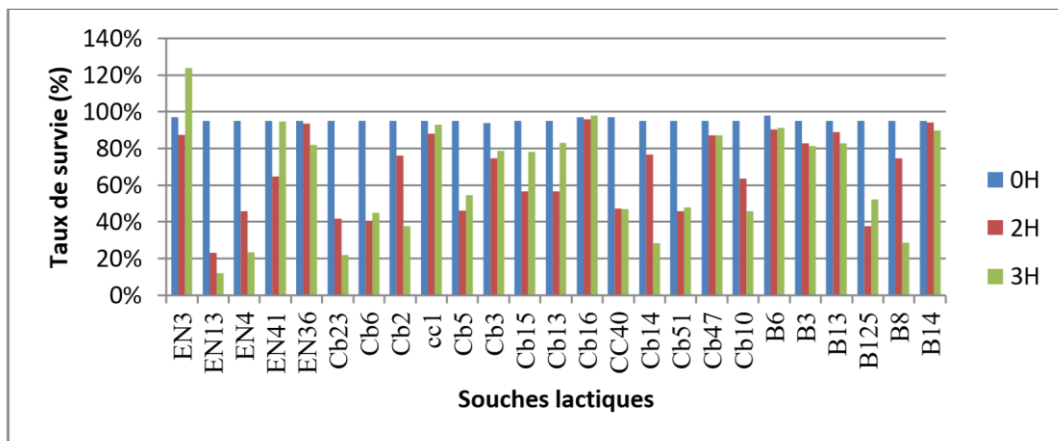
Étant donné que les bactéries probiotiques doivent traverser l'environnement stressant de l'estomac pour atteindre l'intestin grêle, la croissance et la survie dans un environnement acide sont des caractéristiques nécessaires pour offrir des effets thérapeutiques (**Afrin et al., 2021**). Une étude sur l'exposition à long terme des souches individuelles à des conditions acides similaires à celles de l'estomac a été réalisée par incubation dans du milieu MRS à différents pH pendant 3 h.

Les résultats obtenus illustrés par les figures 31 ,32 et 33 montrent l'existence d'une viabilité continue des souches individuelles dans le milieu MRS à différents pH (pH de 6.5, de 2.5 et de 2) ; avec des taux de survie caractéristiques pour chaque isolat.



**Figure 31** : La résistance des souches lactiques individuelles aux milieux acides au pH 2.

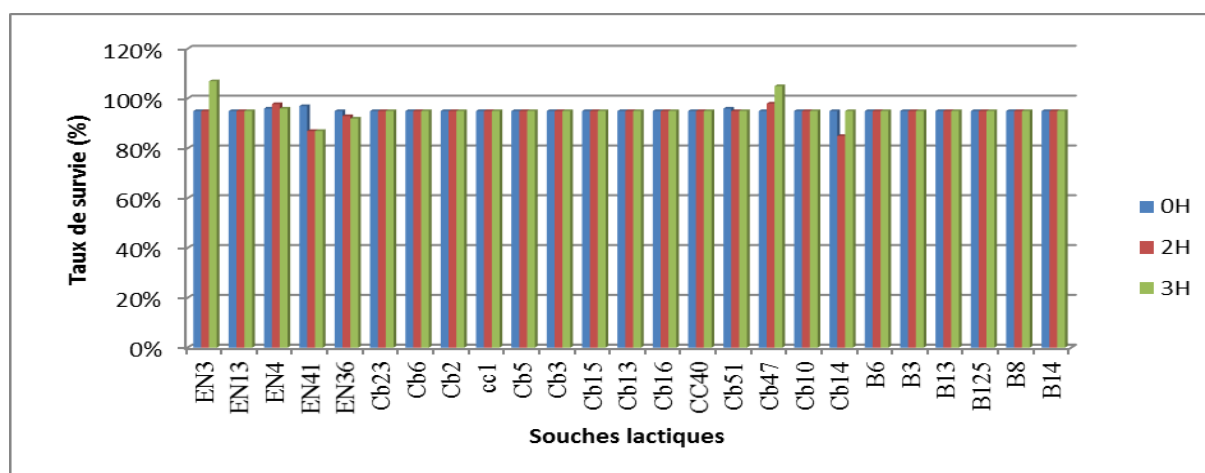
Au pH 2 au temps 0 ; presque toutes les souches ont une résistance très élevée supérieur à 90% par contre au temps 2H et 3H ; les souches ont donné des différences taux de survie.



**Figure 32** : La résistance des souches lactiques individuelles aux milieux acides au pH 2.5.

Au pH 2.5 : on n'a pas eu une réduction significative du taux de survie par rapport à pH 2 et même entre l'ensemble des 25 souches.

## RESULTATS ET DISCUSSION



**Figure 33** : La résistance des souches lactiques individuelles aux milieux acides au pH 6.5.

Au pH témoin 6.5 ; toutes les souches ont les mêmes taux de survies sauf au temps 3H ; les souches EN3 et CB47 a une résistance de  $110\% \pm 0.2\%$  et la souche EN41 a La valeur inférieur de résistance de 90% au temps 2H et même au 3H .au temps 0 tous les souches ont les mêmes taux.

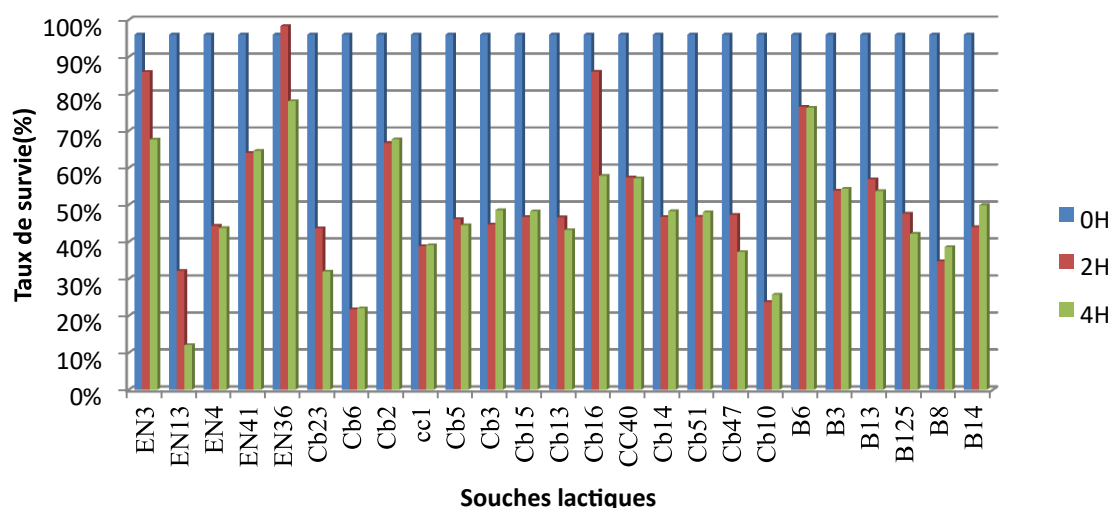
D'une manière générale, L'ensemble des souches ont donné une bonne résistance sur le milieu témoin pH 6.5 et 2.5 avec un maximum de survie de  $110\% \pm 0.2\%$  enregistré chez la souche EN3, de  $90\% \pm 0.8$  enregistré chez les souches B14, B13, B6, EN3, CB16, CC40.

. Selon des travaux précédents, **Maragkoudakis et al., (2006)** ont trouvé que 29 souches de *Lactobacillus* isolées de produits laitiers étaient résistantes au pH acide 3, alors que seules quelques souches étaient résistantes au pH 1. Les sept *lactobacilles* sélectionnés parmi une collection de souches lactique isolées du lait maternel de femmes âgées de 25 à 34 ans présentaient une résistance élevée aux pH 2 et 3, avec des taux de survie allant de 80 à 90% dans l'étude de **(Rajoka et al., 2017)**. Il était surprenant d'apprendre que le taux de survie de toutes les BL isolées des produits fermentés de la région d'Addis-Abeba était supérieur à plusieurs études précédentes, avec des taux de survie globaux allant de 77 à 97 % dans les trois valeurs de pH testées avec des périodes d'incubation de 3 et 6 heures. *Lactobacillus* était le groupe le plus tolérant, avec quatre souches représentatives et un taux de survie de 94 % à pH 3 et de 89 % à pH 2, suivi de \$77 sur 175olats de *Lactococcus* désignés K14 et S9 aux deux valeurs de pH **(Akalu et al., 2017)**.

### 2. La résistance aux sels biliaries

Les sels biliaries sont l'une des barrières à franchir par les bactéries probiotiques pour gagner leur site, de ce fait la tolérance des souches individuelles a été évaluée. Les résultats de ce test sont illustrés dans **la figure 34**.

## RESULTATS ET DISCUSSION



**Figure 34 :** la résistance aux sels biliaries par les souches lactiques isolées.

D'après les résultats présentés dans, il apparaît que les souches lactiques ont présenté une capacité de résistance de valeur (0,3%) de bile après 4h d'incubation à 30° avec des proportions différentes. Nous avons noté une bonne résistance des *Enterococcus* aux sels biliaries, les valeurs varient entre (100% à 35%). Notamment, plusieurs études se sont penchées sur la résistance de la plupart des BL à la bile, exemple **Banwo et al., (2013)**, trouve que l'*Enterococcus* a montré un taux de survie de 79.13 à 61,67 % à des concentrations de sels biliaries de 0,3 et 1 %, respectivement.

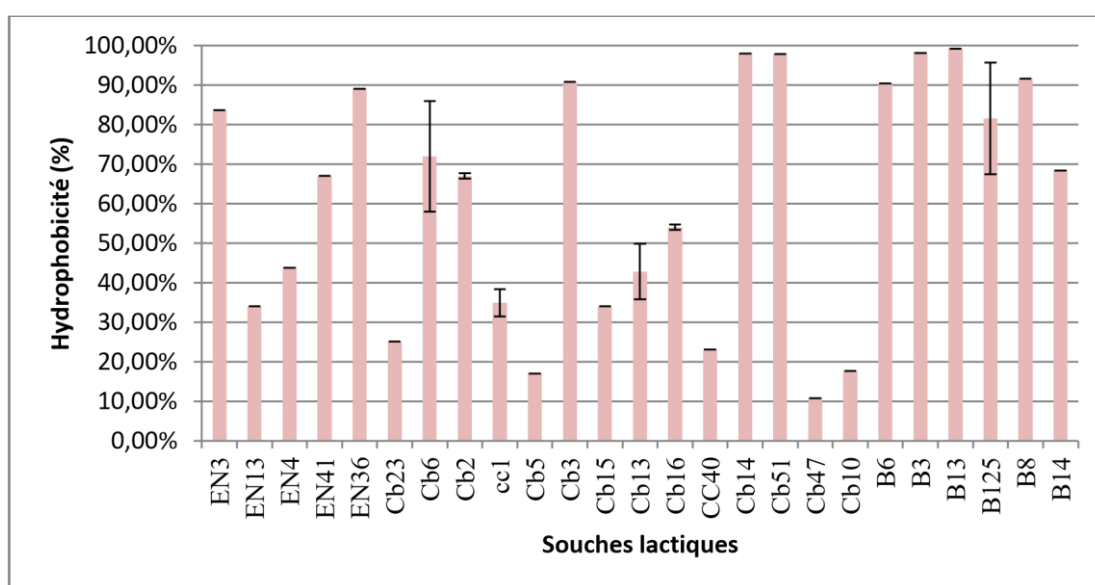
Les *lactobacilles* aussi ont présentées une capacité de résistance contre l'activité biliaire, avec des niveaux variés entre (98% à 21%). La souche CB16 présenté la résistance la plus élevée (89%) suivie de B6 (79%). La concentration physiologique de la bile humaine est comprise entre 0,3% et 0,5% (**Song et al., 2015**). Par conséquent, la résistance aux sels biliaire est une caractéristique importante qui permet aux lactobacilles de survivre, grandir et rester actifs dans l'intestin grêle (**Hyronimus et al., 2000**). Les lactobacilles sont capables de métaboliser leurs acides biliaries ce qui les protèges contre la bile, l'un des mécanismes de cette résistance ; est la dé conjugaison des acides biliaries pas les enzymes hydrolase des sels biliaries, ce qui a pour effet de diminuer la solubilité de la bile à pH bas et de réduire ses activités détergentes (**Hamon et al., 2011**). **Midassirou et al., (2012)** ainsi que **Song et al., (2015)** ont montrés une résistance et une croissance de certaines souches de *Lactobacillus* spp. Testés sur MRS additionné de 0,3 % de sels biliaries, aussi **Reale et al., (2015)** ont découvert que trois isolats de *Lactobacillus* identifiée comme *Lb. casei*, *Lb. paracasei* et *L. rhamnosus*, ont présentés une forte résistance au stress biliaire. Selon **Mermouri et al., (2017)**, la plupart des lactobacilles isolés de produits artisanaux algériens ont montré une résistance élevée après avoir été inoculés avec de la bile bovine naturelle, mais en fonction de

temps d'incubation, seulement trois souches codées (OV13, D006 et E522) ont toléré 0,3 % de sels biliaries après 3 heures d'incubation, et leur tolérance a diminué après 24 heures de test. En contrepartie, **Burns et al., (2008)** ont montré que la plus part des souches de *Lb.*

*delbrueckii ssp. bulgaricus* et *Lb. delbrueckii ssp. lactis* sont sensibles aux sels biliaries.

### 3. Hydrophobicité

L'hydrophobicité d'une bactérie est due en grande partie à la nature des composés présents à sa surface (**Rosenberg et Doyle, 1990**). Pour évaluer l'hydrophobicité des bactéries isolées, une étude de l'affinité de ces souches au solvant (xylène) a été utilisée. L'hydrophobicité des cellules bactériennes a été mesurée à l'issue d'une phase aqueuse. Les résultats sont présentés sur la **figure 35**.



**Figure35:** Résultats de test d'hydrophobicité des souches lactiques isolées.

Les pourcentages d'hydrophobicité ont varié de (100 % à 10%), respectivement (la figure n°). En général, les quinze isolats (En3, En36, Cb3, Cb14, cb51, B6, B3, B13, B125 B8, En41, Cb6, Cb2, Cb14 et Cb16), ont montré une hydrophobicité plus élevée que les autres isolats étudiés avec des pourcentages de 54% à 100%. Selon **Anwar et al., (2013)**, les bactéries sont hydrophobes si le pourcentage d'affinité au xylène est élevé ( $A\% > 50$ ) et selon **Belon-fontaine et al., (1996)**, une bactérie est hydrophobe si le pourcentage d'hydrophobicité est supérieur à 50%, hydrophile quand ce dernier est inférieur à 20% et si le pourcentage est compris entre ces deux valeurs la bactérie est moyennement hydrophobe. De ce fait, nos souches lactiques isolées ont présenté un caractère très hydrophobe, car leur affinité pour le xylène a été supérieure à 54%.

Nos souches appartenant au genre *Lactobacillus* possèdent un caractère hydrophobe très élevés de 100% à 80%. Il a été démontré par **Abdulla et al., (2014)**, que six souches

appartenant au genre *Lactobacillus* possédaient un caractère hydrophobe et quatre souches de *Lb. casei* (BL23, BL90, BL193, BL212) ont été fortement hydrophobes avec un pourcentage d'affinité à l' xylène supérieur à 60%. (Makhloufi, 2011). Le même caractère a été montré pour les bactéries lactiques appartenant aux genres *Enterococcus* et *Lactococcus* (Pieniz et al., 2014), ces auteurs ont rapporté que le caractère hydrophobe des bactéries lactiques est lié à des composants hydrophobes à leur surface et ont suggéré que l'acide lipotéichoïque est impliqué dans les interactions hydrophobes des bactéries gram-positives. Ces derniers jouent un rôle important dans la fixation de ces bactéries sur le support hydrophobe. Ceci peut être expliqué par l'étude de Pelletier et al., (1997) ont rapporté que la présence de matière lipidique glycol) augmente l'hydrophobicité, tandis que les surfaces hydrophiles sont liées à la présence de polysaccharides. Plusieurs auteurs ont rapporté que l'hydrophobicité peut augmenter avec le niveau de protéines membranaires à la surface bactérienne et diminuer en présence de composés polysaccharidiques (Mozes et al. 1988).

#### 4. Auto-agrégation :

Selon les résultats obtenus dans les figures, il apparait que toutes les souches bactériennes testées montrent des pourcentages d'auto-agrégation différente de (100 % -20 %) entre le temps 1H et 3H. L'auto-agrégation est considérée comme l'une des propriétés nécessaires à l'adhérence.

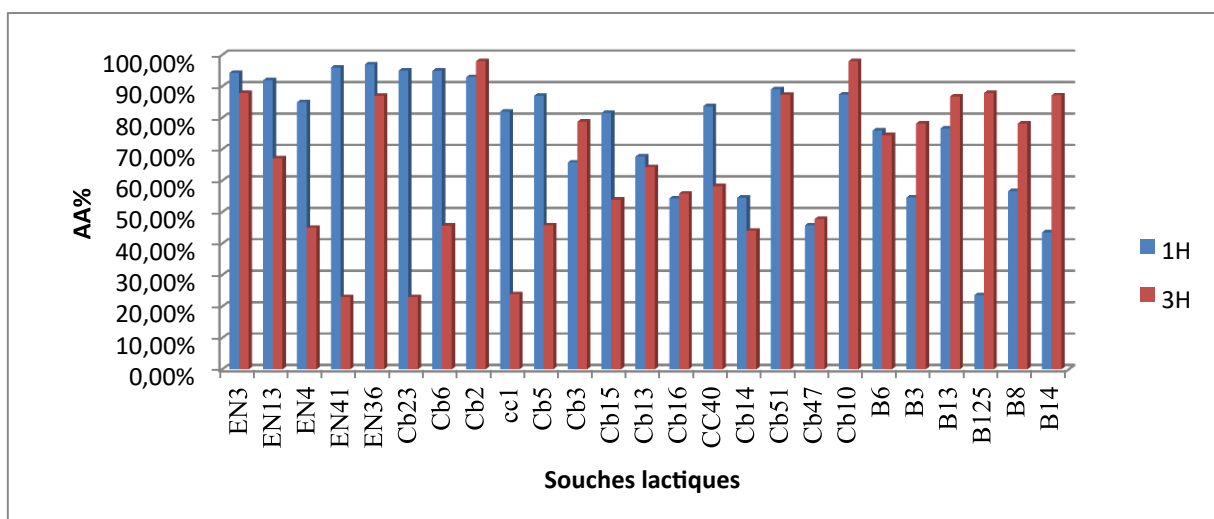


Figure 36 : Pourcentages d'auto-agrégation des souches lactiques.

Parce qu'il facilite la colonisation temporaire et protège le système hôte en formant un biofilm sur le tissu hôte (Ren et al., 2014). Au temps 1H ; La souche EN36 avait un taux d'autoagrégation élevé de 95 %, suivie de la souche EN41 à 94 %. De plus, deux souches CB23 et CB6 ont un taux d'auto-agrégation de 92%, par contre, la souche B125 a un faible

taux de 23 %. Notre résultat est en accord avec **Ren et al., (2014)**, qui ont trouvé que parmi des 9 souches de *Lactobacillus*, qui sont *L. salivarius ssp. Salicinius* et *L. plantarum* d'origines

différentes ont montré des valeurs d'auto agrégation symétrique et une capacité d'adhérence relativement élevées. Au temps 3H ; les souches Cb10 et Cb2 montrent le pourcentage le plus élevé d'auto agrégation (99%) par contre les trois souches EN41 , Cb23 et Cc1 ont les valeurs inférieures avec un pourcentage de 23% .

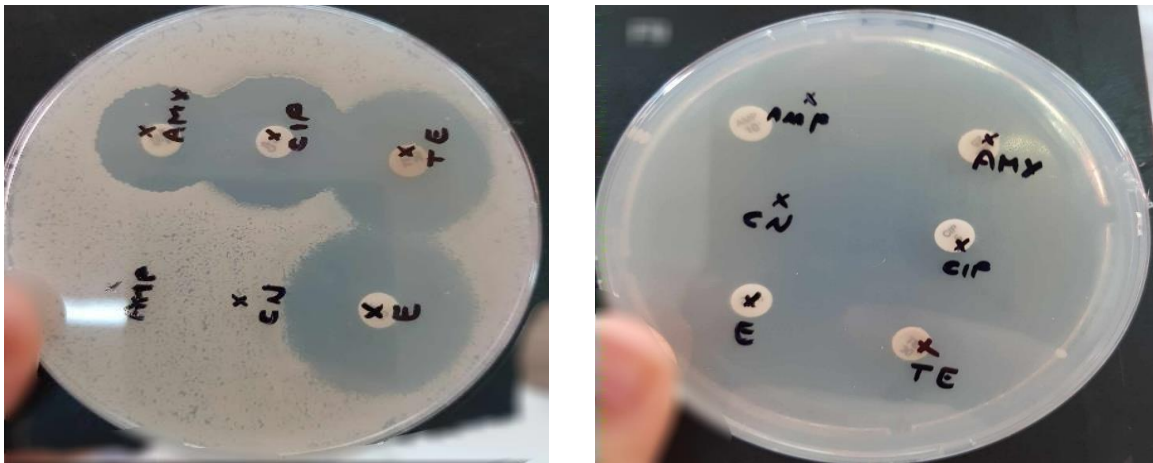
### 5. Résistance aux ATB

La résistance aux antibiotiques a été réalisée pour nos 25 souches lactiques vis-à-vis 6 antibiotiques. Ces derniers appartiennent à différentes familles "B-lactame, aminoglycoside, tetracyclines, macrolide, quinolones et amino-pénicillines".

Chaque ATB a un site et un mode d'action. Par exemple, Les aminoglycosides, quant à eux, sont des pseudo-polysaccharides utilisés comme ATB bactéricides. En raison de sa nature. Ils sont fortement chargés positivement aux valeurs de pH physiologiques et ont une affinité de liaison élevée pour les acides nucléiques, en particulier les parties de l'ARN ribosomal (ARN) procaryote. Ainsi, un mécanisme d'action courant consiste à réduire la synthèse des protéines, en augmenter les erreurs de traduction et à éliminer le besoin de relecture (**Serio et al., 2017**). Le mécanisme d'action de la tétracycline est similaire à celui d'aminoglycoside en ce sens qu'il empêche la traduction, mais en raison de la spécificité de la liaison à l'ARNr 16S, il empêche l'aminocyl-ARNt de se fixer au ribosome de l'ARNm (**Chukwudi, 2016**). la famille des B-lactamas agit comme substrats suicides pour les protéines de liaison à la pénicilline qui catalysent la réticulation des chaînes latérales peptidoglycane lors de la formation de peptidoglycane mature. Après modification de l'ATB par la B-lactame, cette protéine est directement inactivée, empêchant indéfiniment la synthèse de la paroi cellulaire (**Gagetti et al., 2019**). Nous avons considéré que le diamètre de 15mm est la limite entre la résistance et la sensibilité (Karam et Karam, 1994) donc toutes nos souches qui ont un diamètre inférieur à 15mm sont considérées comme étant des souches résistantes et celles qui possèdent un diamètre supérieur à 15mm sont considéré comme sensibles.

## RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats obtenus de l'antibiogramme sont regroupés dans le **tableau 5** et



illustrés dans la **figure 37**.

**Figure 35** : représentative des résultats d'antibiogramme des quelques isolats lactiques.



## RESULTATS ET DISCUSSION

**Tableau05** : Résultats de l'antibiogramme

	En 4	En4 1	En1 3	En 3	En3 6	Cb2 3	Cb 2	Cb 5	Cb4 7	Cb 3	Cc4 0	Cb1 5	Cb5 1	Cb1 0	Cc 1
<b>AMP</b>	(S)	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>AMX</b>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S
<b>CM</b>	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<b>CIP</b>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	R	S
<b>E</b>	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	S
<b>TE</b>	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S

- **S sensible**
- **R résistante**
- **Amp ampiciline**
- **Amx amoxiciline**
- **Te tetracycline**
- **E ;érythromyce**
- **CIP ; ciprofloxacine**

D'après les résultats de test, le profil de sensibilité et de résistance des souches lactiques aux différents ATB utilisés, était variable entre résistant sensible, Selon le type d'ATB et l'isolat lactique examiné. le ATB qui a été empêché le développement des 24 souches testées été ampicilline, les 10 souches (CB5, CB2, CB14, CB16, CB6, B8, B125, B14, B13, B6 ) appartient au *Lactobacillus* présentant une sensibilité pour toutes les ATB. Les lactobacilles sont sensibles aux antibiotiques inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne telle que les  $\beta$ -lactamines comme l'ampicilline, la pénicilline et l'oxacilline (**Charteris et al., 1998b; Ammor et al., 2007; Khöll et al., 2008**). La souche CB3 présente la résistance la plus élevée contre 3 ATB (AMX, CIP, E). Cette résistance a été démontrée dans des études publiées (Swenson et al., 1990 Charteris et al., 1998b; Delgado et al., 2005; Florez et al., 2005) . 5 souches ont montré une résistance contre erythromycine, **Erginkaya et al., (2018)** et **Zarour et al., (2018)** ont rapporté que les BL isolées de produits fermentés Turcs et Algériens sont

reconnues comme probiotiques, respectivement étaient résistantes à l'érythromycine dans 10,8% des cas.

### 6. Activité hémolytique

Tous les isolats lactiques en présenté une hémolyse négative de type gamma comme représente la figure 37.

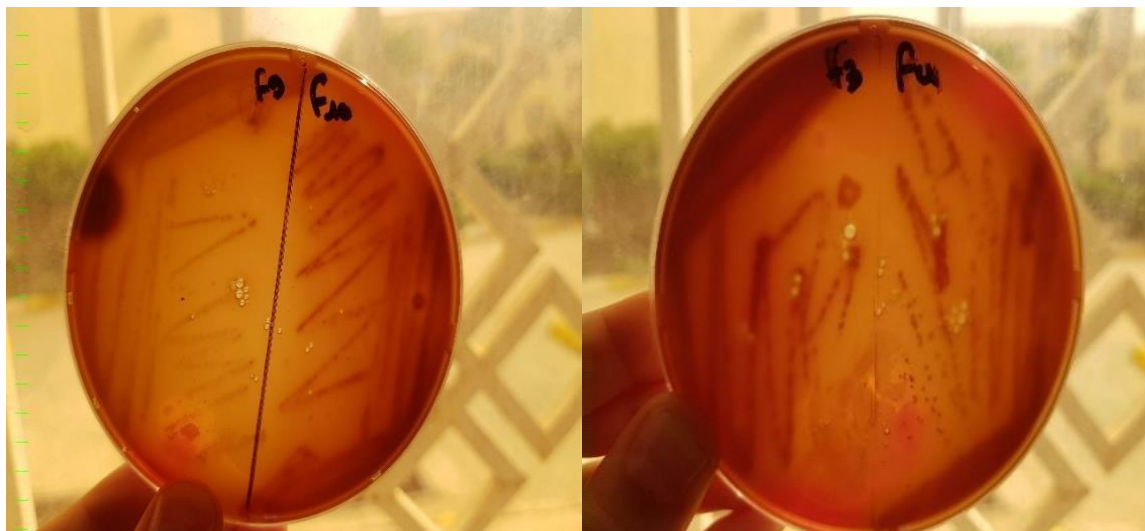


Figure 37 : représentative d'activité hémolytique des BL isolés

### IV. Interaction entre les bactéries lactiques et reconstitutions des ferments mixtes

Dans l'industrie de fermentation, il est assez rare l'utilisation d'une seule souche de bactéries lactiques. En règle générale, on associe plusieurs souches, voire plusieurs espèces et genres bactériens. (Juillard *et al.*, 1987).

Dans le but de reconstituer un ferment mixte, l'étude des interactions entre les souches lactiques semble être une étape primordiale. Ce type de test va mettre en évidence les caractéristiques que possèdent certaines souches de bactéries lactiques à stimuler ou inhiber d'autres souches de même espèce ou d'espèce différente, une fois mise en contact. Les résultats obtenus sont présentés dans (tableau n° 06).

## RESULTATS ET DISCUSSION

## RESULTATS ET DISCUSSION

	Cb <sub>23</sub>	Cb <sub>2</sub>	Cb <sub>5</sub>	En <sub>41</sub>	Cb <sub>47</sub>	En <sub>13</sub>	En <sub>3</sub>	Cb <sub>3</sub>	B <sub>3</sub>	B <sub>125</sub>	Cc <sub>40</sub>	B <sub>5</sub>	B <sub>13</sub>	Cb <sub>15</sub>	B <sub>14</sub>	Cb <sub>51</sub>	Cb <sub>10</sub>	Cb <sub>6</sub>	Cc <sub>1</sub>	Cb <sub>14</sub>	Cb <sub>16</sub>	Cb <sub>13</sub>	En <sub>36</sub>	En <sub>4</sub>	B <sub>6</sub>	
EN <sub>4</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
CB <sub>47</sub>	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Cb <sub>23</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Cb <sub>16</sub>	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-
Cb <sub>6</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Cb <sub>5</sub>	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
B <sub>14</sub>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	
B <sub>13</sub>	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	
En <sub>41</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
En <sub>3</sub>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
B <sub>6</sub>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Cb <sub>3</sub>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Cb <sub>14</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B <sub>3</sub>	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+
CC <sub>1</sub>	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	
B <sub>125</sub>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
En <sub>13</sub>	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Cb <sub>13</sub>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Cb <sub>2</sub>	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-
Cb <sub>10</sub>	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Cb <sub>15</sub>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Cc <sub>40</sub>	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
B <sub>5</sub>	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+
En <sub>36</sub>	+	+	+	-	+	+	+/-	-	+	-	+/-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+

**Tableau 06** : interaction entre les bactéries lactiques sélectionnées.

En analysant ces résultats, nous pouvons constater que 22 souches de BL parmi les 46 sélectionnées ont une bonne capacité technologiques et probiotiques et qui n'ont pas d'interaction négative entre eux à produire des fermentes, et parce qu'une quantité adéquate et équilibrée de BL doit être choisie pour produire ferment selon **Rakhmanova et al., (2018)**, 15 ferment ont été créés après une combinaison aléatoire (IV/IV) de BL choisies (**tableau n°07**)

**Tableau07** : composition en souches des fermentes mixtes.

<b>Ferment</b>	<b>Souches</b>
<b>1.</b>	Cb23 × cb2
<b>2.</b>	Cb5 × En3
<b>3.</b>	Cb5 × b8
<b>4.</b>	En41 × cb15+ cc40
<b>5.</b>	B125 × cb23+ En3
<b>6.</b>	En4 × En3
<b>7.</b>	B13 × B14
<b>8.</b>	B6 × cb6 + B19
<b>9.</b>	Cc1 × B8
<b>10.</b>	En36 × B6
<b>11.</b>	En13 × En36 + En3
<b>12.</b>	Cb47 × cb14
<b>13.</b>	Cb3 × En3
<b>14.</b>	Cb16 × B8
<b>15.</b>	En13 × B13 + En3

Les BL formant le ferment doivent avoir une interaction positive qui affecte la qualité technologique des produits. Selon **Bintsis (2018)**, ces interactions portent sur la capacité des BL à effectuer trois principaux processus de dégradation : la glycolyse, la lipolyse et la protéolyse.

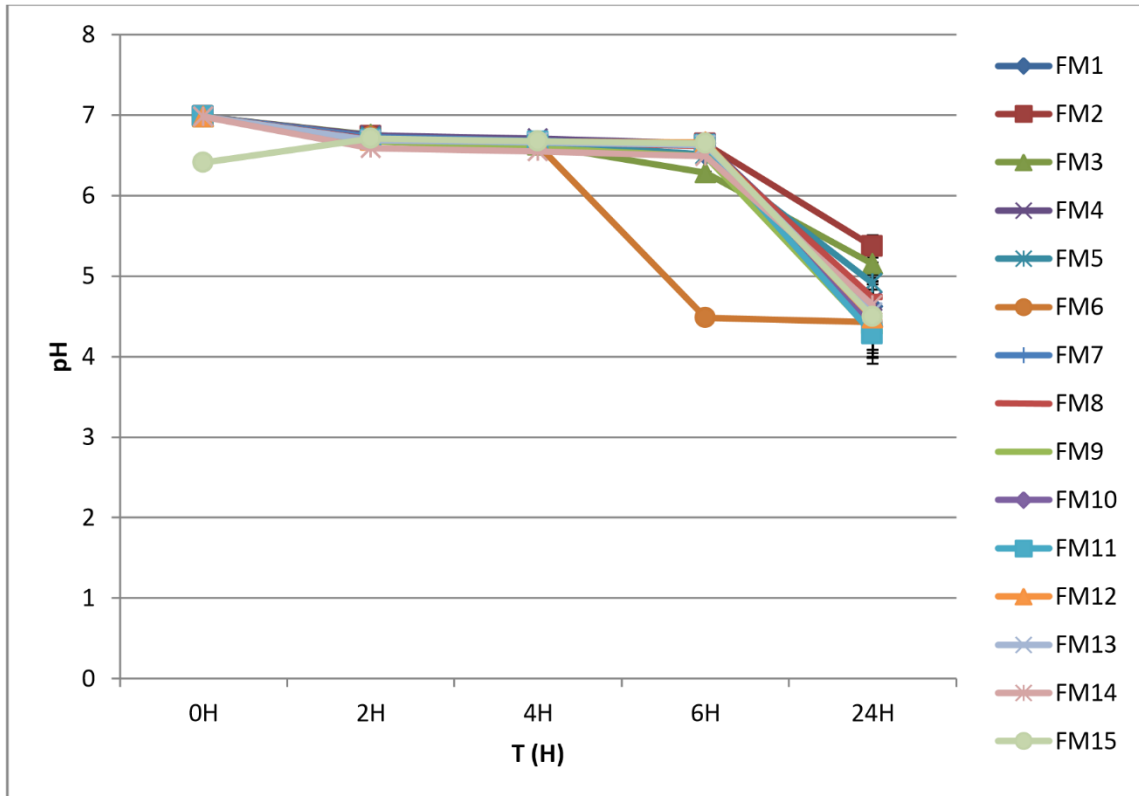
## **V. Aptitude technologique des ferments mixtes reconstitués**

### **1. Activité acidifiante**

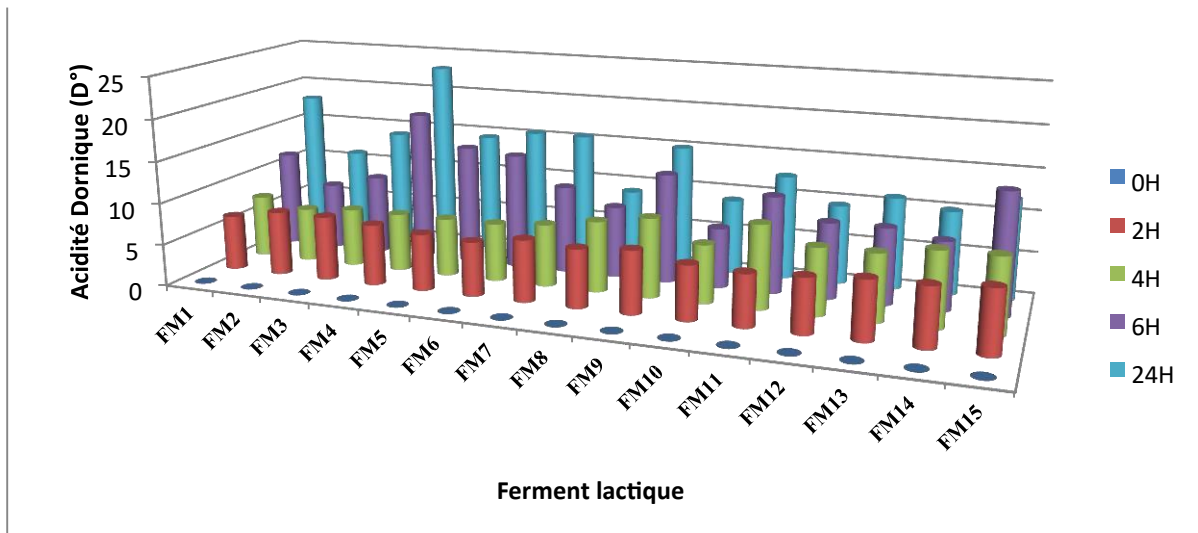
La composante BL de FM doit avoir une interaction positive qui affecte la qualité technique du produit. Selon **Bintsis (2018)**, ces interactions portent sur la capacité de BL à effectuer trois principaux processus de dégradation : la glycolyse, la lipolyse et la protéolyse.

L'interaction technique entre 15 FM formés a été étudiée et les résultats ont été présentés dans les figures 34 et 35.

## RESULTATS ET DISCUSSION



**Figure 38 :** Le pouvoir acidifiant de 15 ferments mixtes, (La production de l'acide lactique



par les 15 ferments mixtes en fonction de temps (H))

**Figure 39 :** Le pouvoir acidifiant de 15 ferments mixtes, (L'évolution de pH de milieu sous 15 ferments mixtes en fonction de temps (H))

De nombreuses études, dont la nôtre, ont démontré que les résultats des activités des ferments sont divers. Initialement, comme le montre la figure 34, tous les FM ont présenté une capacité de production d'acide lactique et ont progressivement diminué le pH avec des

valeurs allant d'un ferment à l'autre pendant les heures de test. Après une expérience de 24 heures, la production d'acide lactique de FM1, FM4, FM6 et FM7 a atteint 18 g/L, 23 g/L, 15,5 g/L et 15,5 g/L, respectivement ; Il y avait un collègue avec un pH de

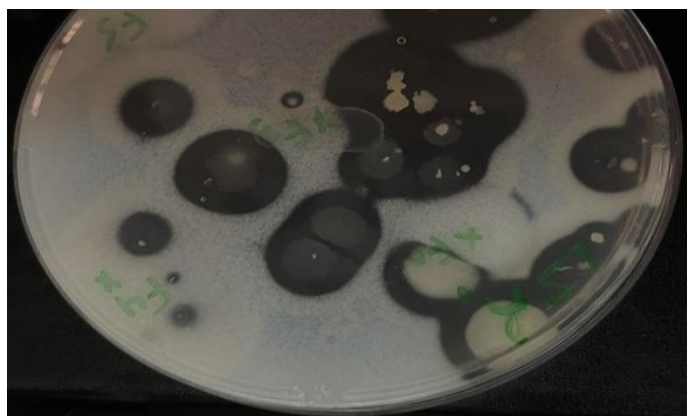
« 5.14 - 4.55 », par contre ; FM2, FM3 et FM4 a une valeur de pH supérieur à « 5,5.47-5,195,14 » pendant 24 heures d'incubation dans du lait écrémé à 0%, indiquant que FM9, F10, FM13, FM14 ont montré une faible acidité, ces résultats ont montré que la production d'acide lactique des isolats était supérieure à celle des ferments.

Nos résultats concordent avec ceux de **Matrouh, R. (2022)**, qui ont révélé des niveaux intéressants de production d'acide lactique de 15 g/L, 13 g/L et 12 g/L après une expérience de 36 heures. Outre l'observation de certains ferments avec un pH inférieur à 5' « 4,37 » pendant 16 heures d'incubation dans du lait écrémé à 10 %, la baisse de pH associée peut également être attribuée au test de 36 heures.

### 2. Activité protéolytiques des ferments

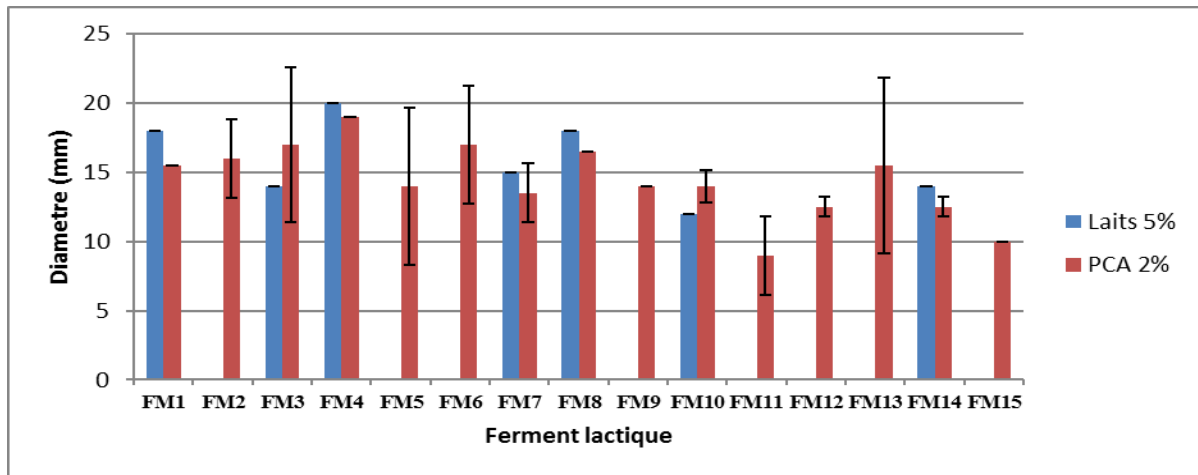
La protéolyse est l'un des processus biochimiques les plus importants impliqués dans la production de beaucoup de produits fermentés. Le système protéolytique des bactéries lactiques décompose les protéines et modifie donc texture, goût et arômes des produits fermentés (**El-Ghaish et al., 2011**)

Sur le milieu PCA + lait écrémé, tous les ferments presque montré le même pouvoir protéolytique comparativement aux sur le milieu MRS + lait écrémé solide, Les diamètres des zones d'hydrolyse étaient de l'ordre de 8 à 30mm pour les ferments sur le milieu MRS + Lait écrémé solide et de 7 à 20 mm sur le milieu PCA + Lait écrémé entre les répétitions après une incubation de 48h à 30C°, après incubation 96h à 30C° ; les diamètres des zones augmentent sur le milieu PCA + Lait écrémé.



**Figures 40 :** Photo représentative de l'activité protéolytique de quelques ferments sur un milieu MRS + Lait écrémé solide.

## RESULTATS ET DISCUSSION



**Figure 41** : les diamètres de zones de protéolyse des ferments.

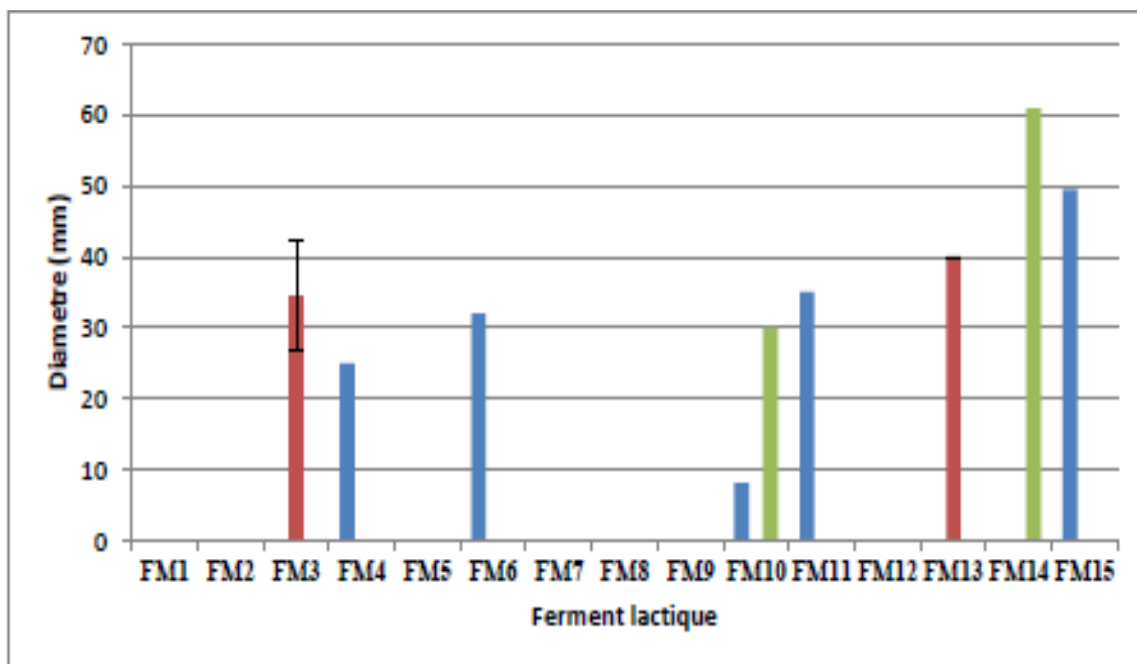
Tous les 15 ferments ont montré une activité protéolytique raisonnablement forte, avec des moyennes de lyse allant de 20 mm à 12 mm sur lait écrémé et de 7 à 18 mm sur PCA + Lait.

Sur ces résultats, les ferments ont montré un bon pouvoir protéolytique comparativement aux souches individuelles qui les composent.

### 3. Activité lipolytique des ferments

Les caractéristiques lipolytiques des quinze ferments mixtes :

- **Sur huile d'olive :**

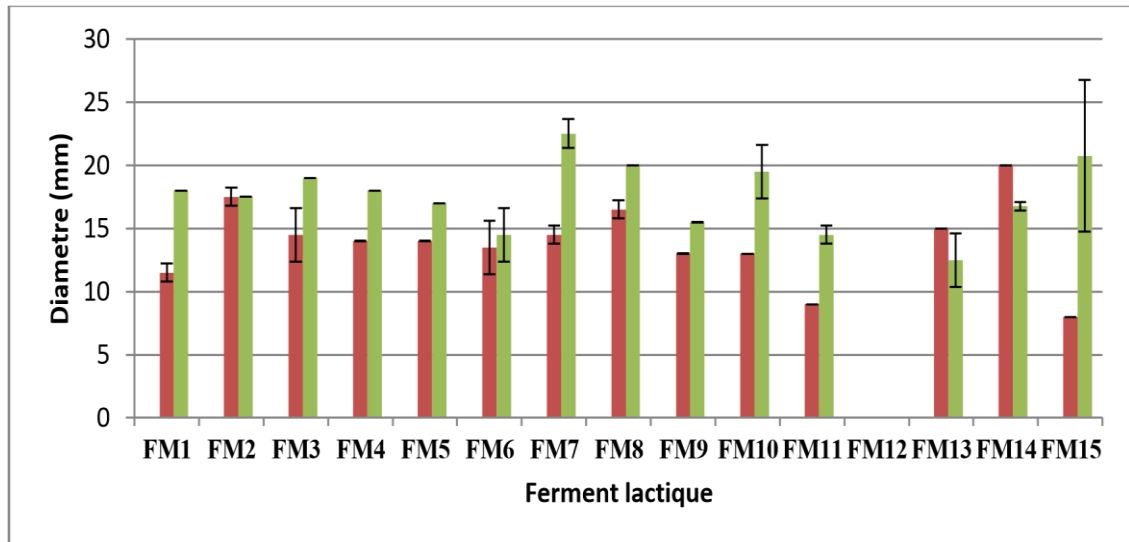




## RESULTATS ET DISCUSSION

**Figure 42 :** représentative de l'activité lipolytique des ferments mixtes en utilisant l'huile d'olive

Les résultats montrent une activité faible des ferments en utilisant des différentes concentrations 1% ; 3% et 5% d'huile d'olive par rapport aux celles des isolats (voir figure0) ; avec une Absence totale de lipolyse lors de l'utilisation de différentes concentrations 1% ; 3% et 5% d'huile d'olive chez les ferments FM1 ; FM2 ; FM5 ; FM7 ; FM8 ; FM9 ; FM12.

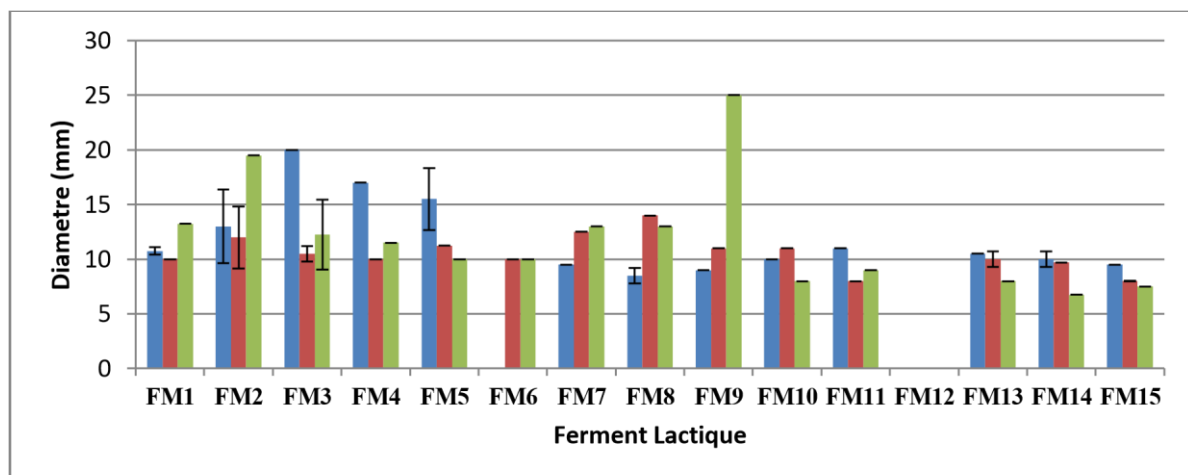


- **Sur beurre :**

**Figure 43 :** représentative de l'activité lipolytique des ferments mixtes en utilisant le Beurre

Absence totale d'activité lipolytique lors du l'utilisation de 1% de beurre pour les 15 ferments ; par contre ils ont montré une activité significative en présence de 3% et 5% dont l'intervalle des zones varie entre [8 à 25mm].

- **Sur tween 80 :**



**Figure 44 :** représentative de l'activité lipolytique des ferments mixtes en utilisant le Tween80

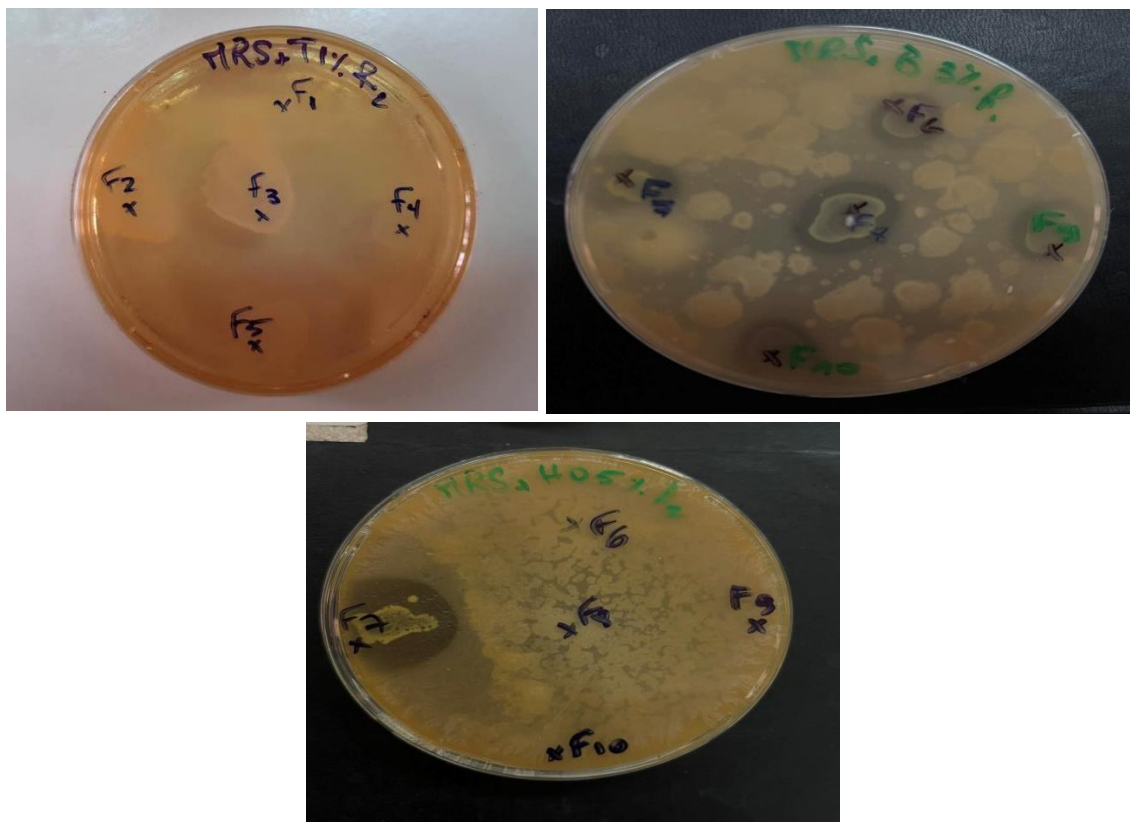
## RESULTATS ET DISCUSSION

Les ferments ont montré une lipolyse importante à la présence de différentes concentrations (1% ,3%,5%) de la source artificielle Tween 80 dont l'intervalle des zones varie entre [6.5 à 25mm]

On documente que FM12 ne présente aucune activité lipolytique à la présence de différente source lipolytique naturelle et artificielle.

Lors de l'utilisation de la source artificielle tween 80 avec des concentrations variables (1% ,3%,5%) et de la source naturelle : Beurre à 3%et 5%, la lipolyse a été documentée avec des zones de lyse améliorée par rapport à l'utilisation de la source naturelle : huile d'olive ; cela s'opposer à les résultats de (Metrouh.R, 2022) qui d' documente que la lipolyse de ces ferments mixtes a été avec des zones de lyse améliorée à l'utilisation d'huile d'olive par rapport à l'utilisation de Tween 80 avec des concentrations variables.

Sur la base de ces résultats, nous constatons que le potentiel technologique de souches isolées est plus important que des ferments mixtes.



**Figure 45 :** lipolyse des ferments mixtes utilisant de source lipolytique naturelle et artificielle

**4. Activité texturante**

**Tableau 08 : Lecture après incubation 48h à 30C°**

Souche	Croissance		Colonies gluantes	
	R1	R2	R1	R2
F1	-	-	-	-
F2	+	-	-	-
F3	+	+	+	+
F4	+	+	+/-	-
F5	+	-	+	-
F6	-	-	-	-
F7	+	+	++	++
F8	+	+	++	++
F9	+	-	-	-
F10	-	-	-	-
F11	-	-	-	-
F12	-	-	-	-
F13	+	+	++	++
F14	-	+	-	+
F15	-	+	-	+

**(-) : négatifs**

**(+) : faibles**

**(++) : Moyens**

**(+/-) : plus au moins**

D'après le tableau et parmi les 46 souches testées, on a réalisé 15 ferments 33.33% ont été classées comme productrices d'EPS, la majorité 66.66% de ses ferments ne peuvent pas se développer dans le milieu hypersaccharosé..

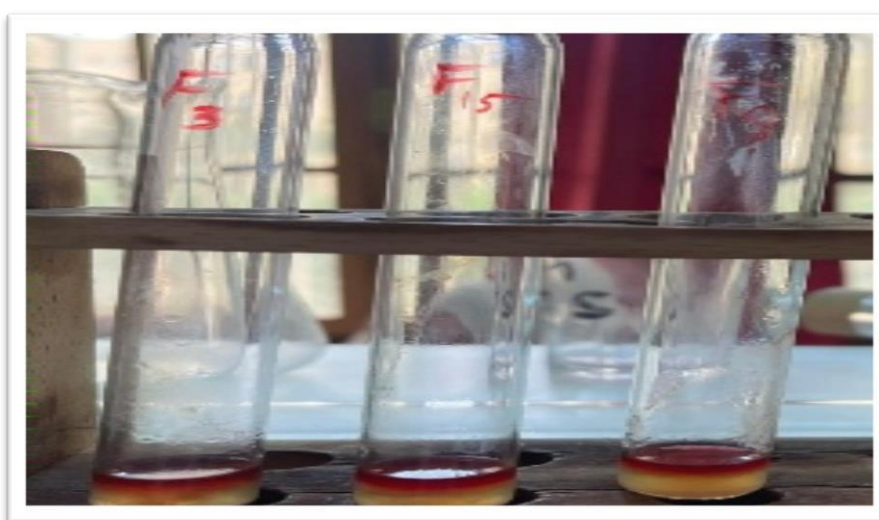
Ce test a montré que les ferments étudiés à l'exception de F1. F2. F5. F6. F9. F10. F11. F12. F14. F15 en formant des colonies à aspect plus ou moins gluant témoignant une production d'un agent épaississant, les ferments F7 F8 F13 ont la capacité la plus élevée de produire l'EPS

## RESULTATS ET DISCUSSION

D'après Sanalibaba et Çakmak, (2016) *Streptococcus thermophilus* et *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus*, deux starters producteurs d'EPS dans le yaourt ont un effet **significatif** sur la texture et la conservation de la synérèse. La fermentation lactique pour produire des EPS produit des hydrocolloïdes, un ingrédient essentiel dans le processus de fabrication du fromage.

### 5. Activité aromatisant des ferments

L'une des caractéristiques technologiques importantes lors de la fabrication est élaboration des produits laitiers fermentés est la production d'arôme. D'après la **figure 46**, il apparaît que les ferments mixtes ont un pouvoir aromatique car ils présentent un anneau rouge autour du tube après l'ajout de 2 réactifs (VP1, VP2).



**Figure 46** : présente la production des arômes par les ferments mixtes.

Les résultats obtenus après la réalisation de ce test regroupé dans le tableau 09.

**Tableau 09** : Résultat de l'activité aromatisant des ferments mixtes

Ferment	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	F12	F13	F14	F15
Résultat	++	+++	-	-	+++	+++	+++	++	++	-	+	+	+	-	+++

- (-) : négatifs
- (+) : faibles
- (++) : moyens
- (+++) : fortes

D'après le tableau, on peut voir que les cinq ferments mixtes (F2 / F5 / F6 / F7 / F15) ont le meilleur niveau de production d'arôme (acétone), elles ont donc un pouvoir aromatique important qui contribue aux propriétés organoleptiques des produits fermentés. Le rendement

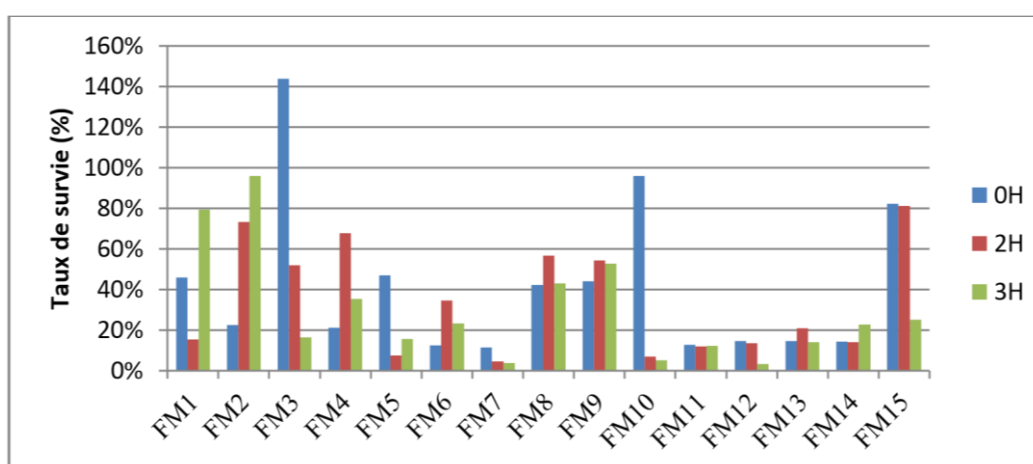
## RESULTATS ET DISCUSSION

aromatique des ferments (F1/F8/F9) est moyen, tandis que la production d'acétone des ferments (F11/F12/F13) est faible. D'autre part, les ferments (F3/F4) /F10/F14) ont été documentés pour ne montrer aucune activité aromatique. Sur la base de ces résultats, nous observons que le niveau de production d'acétone des ferments mixtes est plus important que celui des souches isolées.

### IV. Activité probiotique des ferments

#### 1. Résistance à l'acidité

Les résultats décrits ci-dessous montrent la viabilité continue des ferments mixtes dans le milieu MRS à différents pH (pH de 6,5, de 2,5 et de 2). Nous avons pu détecter des différences significatives dans la survie de chaque ferment.

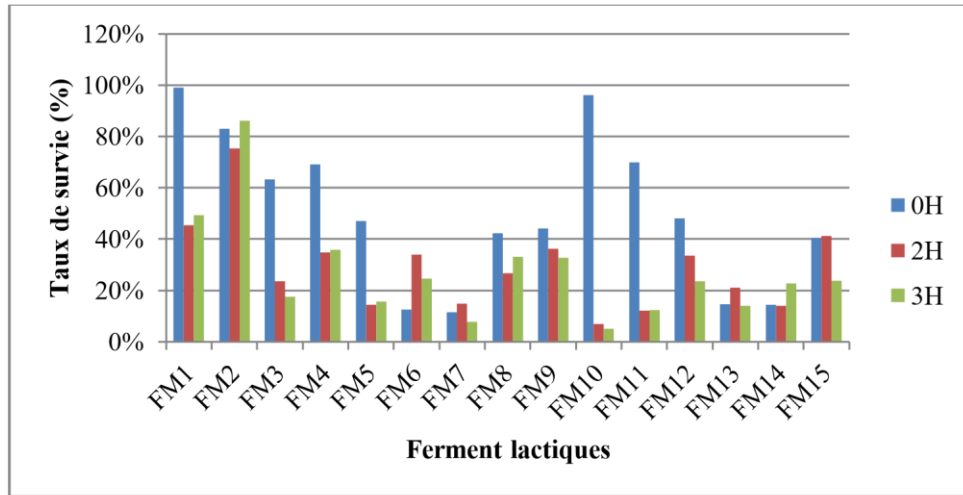


Le ferment F3 au temps **0** a montré une meilleure résistance au pH 2 ( $140\% \pm 0.6\%$ ), suivi par le ferment F10 avec un taux de survie de  $90\% \pm 0.8\%$  et le ferment F15 avec un taux de survie de  $80\% \pm 0.4\%$ .

Au temps 2H ; le ferment F15 montré une résistance la plus élevée par rapport aux autres ferments ( $80\%$ ), suivi par F2 avec un taux de survie de  $70\% \pm 0.5\%$  et par F4 avec un taux de  $60\% \pm 0.7\%$ .

Au temps 3H ; les ferments F2, F1, F9 a des taux de survies successive de ( $90\% \pm 0.8\%$ ), ( $80\%$ ) et ( $50\% \pm 0.6\%$ ).

## RESULTATS ET DISCUSSION

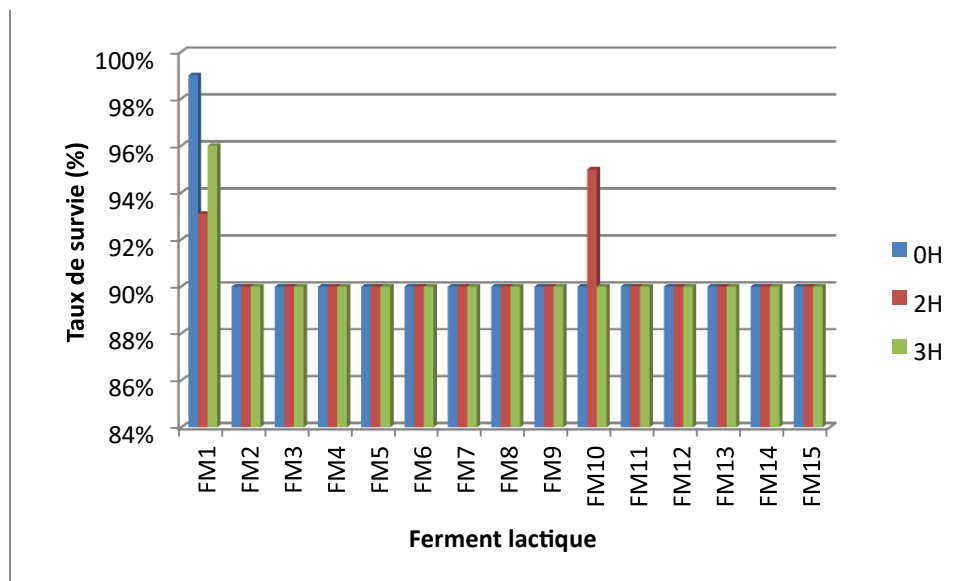


**Figure 48:** La résistance des ferments mixtes aux milieux acides au pH de 2.5.

Le ferment F1 au temps 0 a montré une meilleure résistance au pH 2.5 (90 %  $\pm$  0.8%), suivi par le ferment F10 avec un taux de survie de 90% $\pm$  0.5% et le ferment F11 avec un taux de survie de 70%  $\pm$  0.2%.

Au temps 2H ; le ferment F2 montré une résistance la plus élevée par rapport aux autres ferments (70%  $\pm$  0.7%), suivi par F1 avec un taux de survie de 40% $\pm$  0.5% et par F15 avec un taux de 40%  $\pm$  0.1%.

Au temps 3H ; les ferments F2, F1, F4 a des taux de survies successive de (80% $\pm$ 0.8%), (50%) et (30%  $\pm$  0.8%) ; le ferment F10 enregistré la valeur la plus faible de survie inférieur



à 10%.

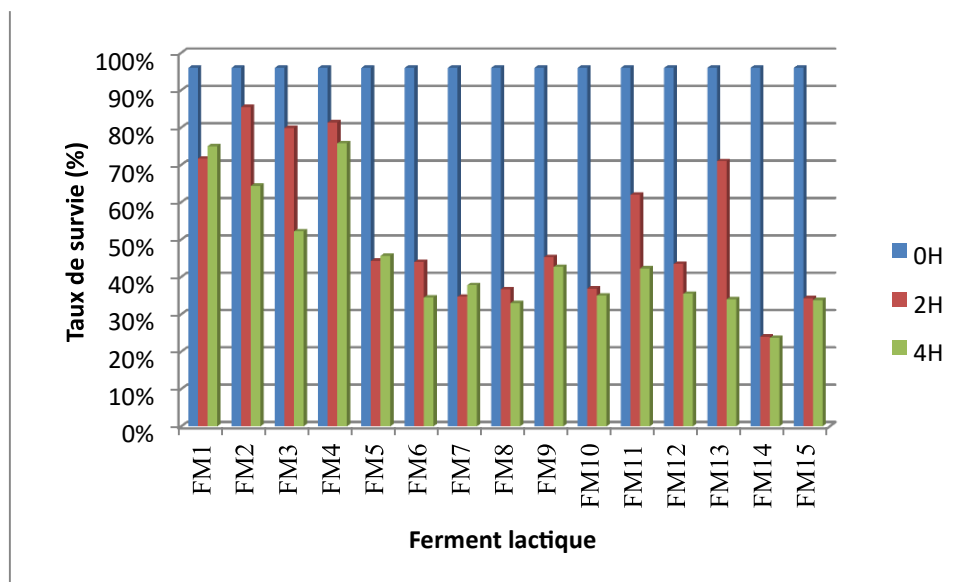
**Figure 49 :** La résistance des ferments mixtes aux milieux acides au pH 6.5.

## RESULTATS ET DISCUSSION

L'ensemble des ferments mixtes ont donné une bonne croissance sur le milieu témoin pH 6.5 ; presque tous les ferments ont les mêmes taux de survies au temps 0H, 2H et 3H ; le ferment F1 au temps 0 a montré une meilleure résistance de 99%, au temps 2H ; les deux ferments F10 et F1 ont des taux de 95% et 93 %  $\pm 0.3\%$  et au temps 3H sauf le ferment F1 a une résistance élevée de 96% de taux de survie.

### 2. La résistance aux sels biliaries

La résistance des ferments mixtes (F1, F2, F3, F4, F5, F6, F7, F8, F9, F10, F11, F12, F13, F14, F15) en présence de bile a été également testée. Ces ferments ont été exposés à 0,3% de bile pendant 4h. Les résultats sont illustrés par la figure 50 :



**Figure 50 :** la résistance des ferments mixtes aux sels biliaries

Il apparaît que les ferments mixtes ont présenté une résistance vis-à-vis des sels biliaries plus importants que les souches pures, la valeur variant entre (85% à 30%). Nous avons noté que le ferment F1 présente la valeur la plus élevée de (85%) par contre F4 enregistré le taux de survie le plus faible de (30%).

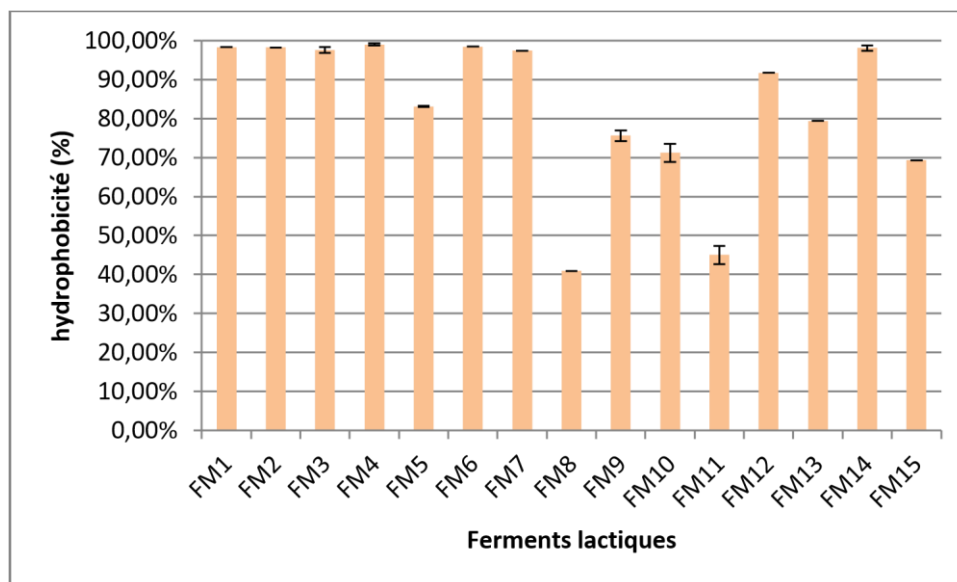
Par rapport à nos résultats les résultats de **(Hadeif, 2012)**, ont montré que les ferments mixtes présentant une sensibilité vis-à-vis aux sels biliaries. Et noter que l'association des souches n'a pas d'effet significatif sur l'augmentation de la chance de survie des bactéries lactiques testées dans des milieux acides et en présence de sels biliaries, mais la résistance reste importante (supérieure à 70%), ce qui rend possible le passage vivant de ces ferments dans le tractus digestif.

### 3. Hydrophobicité

Ce test permet d'évaluer l'hydrophobicité des ferments mixtes vis-à-vis du xylène qui peut refléter le potentiel de colonisation des ferments aux mucus intestinaux.

## RESULTATS ET DISCUSSION

La répartition des cellules entre la phase aqueuse et le xylène résulte de l'interaction hydrophobe entre les microorganismes et les hydrocarbures. Les pourcentages obtenus de



l'adhérence des ferments mixtes au xylène indiquent l'hydrophobicité de leur surface. Les résultats de ce test sont illustrés par **la figure 51**.

**Figure 51** : Résultats de test d'hydrophobicité des ferments lactique.

Ces résultats montrent que les ferments mixtes testés présentent une bonne hydrophobicité, cela témoigne une bonne sélectivité des surfaces membranaires. La valeur la plus élevée (99,98%) est enregistrée avec le ferment (FM 4) et la plus faible et la plus faible du FM8 (40%). Ces résultats montrent que le pourcentage d'hydrophobicité des ferments mixtes est plus élevé que celui des souches lactiques pures. Nos résultats sont en accord avec ceux de **Ly-Chatain et al., (2010)** qui ont trouvé une hydrophobicité de 40% pour des souches lactiques.

L'hydrophobicité de la paroi cellulaire est une propriété physico-chimique qui facilite le premier contact entre les microorganismes et les cellules hôtes. Ainsi, elle semble être un facteur aidant à l'adhérence, mais elle ne contribue pas à une bonne adhésion (**Roos et Jonsson, 2002; Guglielmotti et al., 2007**).

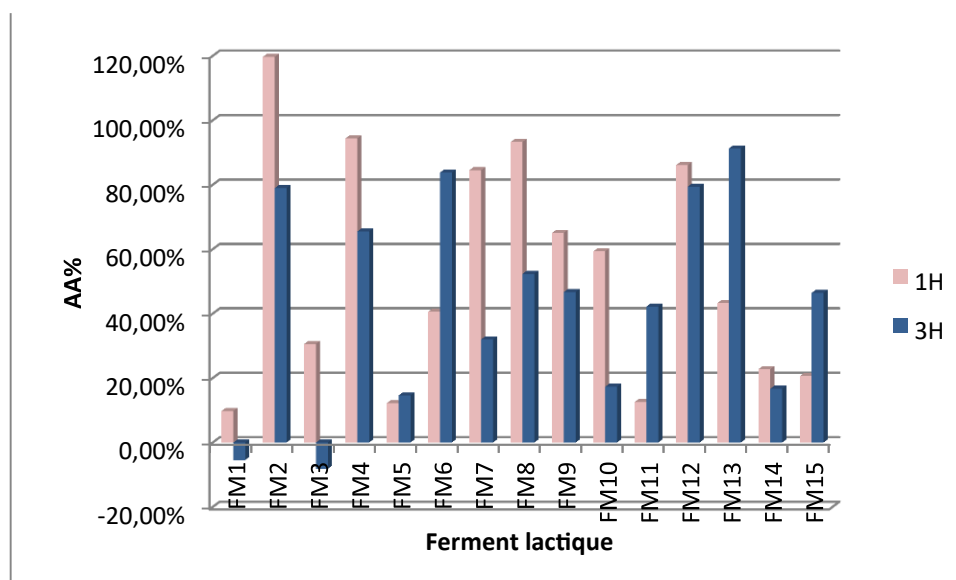
#### 4. Auto-agrégation

L'auto-agrégation est l'un des facteurs clés qui détermine la capacité d'adhésion des souches probiotiques au TGI, à le coloniser et à moduler le système immunitaire (**Ouwehand et Vesterlund, 2004 ; Abdulla et al., 2014**).

Selon les résultats obtenus dans **la figure 52** :



## RESULTATS ET DISCUSSION



**Figure 52 :** Pourcentages d'auto-agrégation des ferments lactiques.

Presque tous les ferments présents une auto agrégation élevée ; le ferment F1 montre une auto agrégation la plus élevée avec un pourcentage de 120% les ferments F1, F3 enregistrées la valeur la plus faible d'auto agrégation de -10% après 3H du temps respectivement.

### 5. Hémolyse :

L'étude de l'activité hémolytique a été étudiée sur gélose au sang à base de milieu PCA. Ce milieu est utilisé pour la détection et la détermination des caractéristiques hémolytiques des ferments mixtes, les résultats présentés dans **la figure 53 :**



**Figure 53 :** présenté activité hémolytique des ferments.

Les 15 ferments ne présentait aucune activité hémolytique, aucune zone d'hémolyse de type alpha ou bêta n'a été observée autour des colonies donc le type d'hémolyse pour tous les souches et les ferments est gamma. (Boulahrouf *et al.*, 2017), ont montré que les souches lactiques isolées ne présentant aucune activité hémolytique.

## RESULTATS ET DISCUSSION

### 6. Résistance aux antibiotiques

Les résultats de la résistance et la sensibilité des ferments mixtes aux antibiotiques sont groupés dans le **tableau 10**

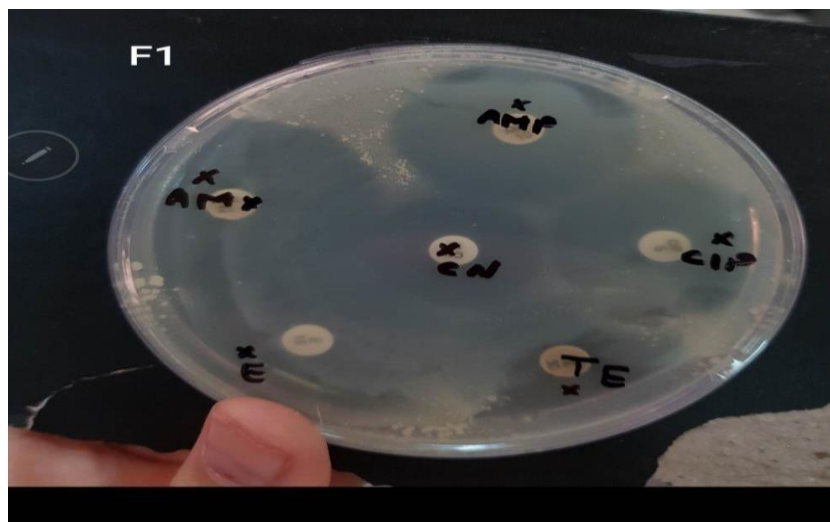
**Tableau 10** : résultat d'antibiogramme des ferments mixtes aux ATB

Résistance des ferments aux Antibiotiques	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	F10	F11	F12	F13	F14	F15
<b>AMP</b>	S	S	S	S	S	S	/	/	S	/	/	/	/	/	/
<b>AMX</b>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S
<b>CM</b>	S	S	S	S	S	S	/	/	/	/	/	/	/	/	/
<b>CIP</b>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
<b>E</b>	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
<b>TE</b>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

(/) : sans antibiogramme

Les résultats obtenus montrent que les 3 ferments (F2, F5, F6), sont sensibles à toutes les ATB. Par contre la ferment -F14 présenté la résistance la plus élevée vis-à-vis 3 ATB (CIP, CM, AMX).

Les souches qui ont une résistance a un seul ATB sont F1. F3. F4. F13. F10 avec une inhibition totale avec CIP,TE. Donc les souches lactiques isolées présentent une activité



inhibitrice plus importante que les ferments mixtes.

**Figure 54** : Résultat d'antibiogramme des ferments mixtes.

Plusieurs études ont montré la résistance naturelle d'une gamme importante de bactéries lactiques aux antibiotiques (**Botes et al.,2008**). Il est nécessaire avant de lancer une culture probiotique de vérifier que les souches bactériennes impliquées ne contiennent pas des gènes

de résistance aux antibiotiques (**Ammor et Mayo, 2007**). Selon **Donohue (2004)**, le criblage de telles souches pour la reconstitution de ferments lactiques n'est pas encore entrepris actuellement, à cause de la difficulté de l'évaluation in vitro du potentiel de transfert de gènes de résistance.

La résistance des probiotiques aux antibiotiques peut poser un problème si elle peut être transmise à des pathogènes chez lesquels la résistance thérapeutique pourrait avoir des conséquences néfastes. L'utilisation de différentes souches lactiques en tant que probiotiques doit faire l'objet de travaux extrêmement attentifs (**Marteau et al., 2004**). De même l'autorité Européenne de Sécurité Alimentaire, suggère que les probiotiques ne doivent pas avoir une résistance acquise aux antibiotiques (**Zago et al., 2011**).

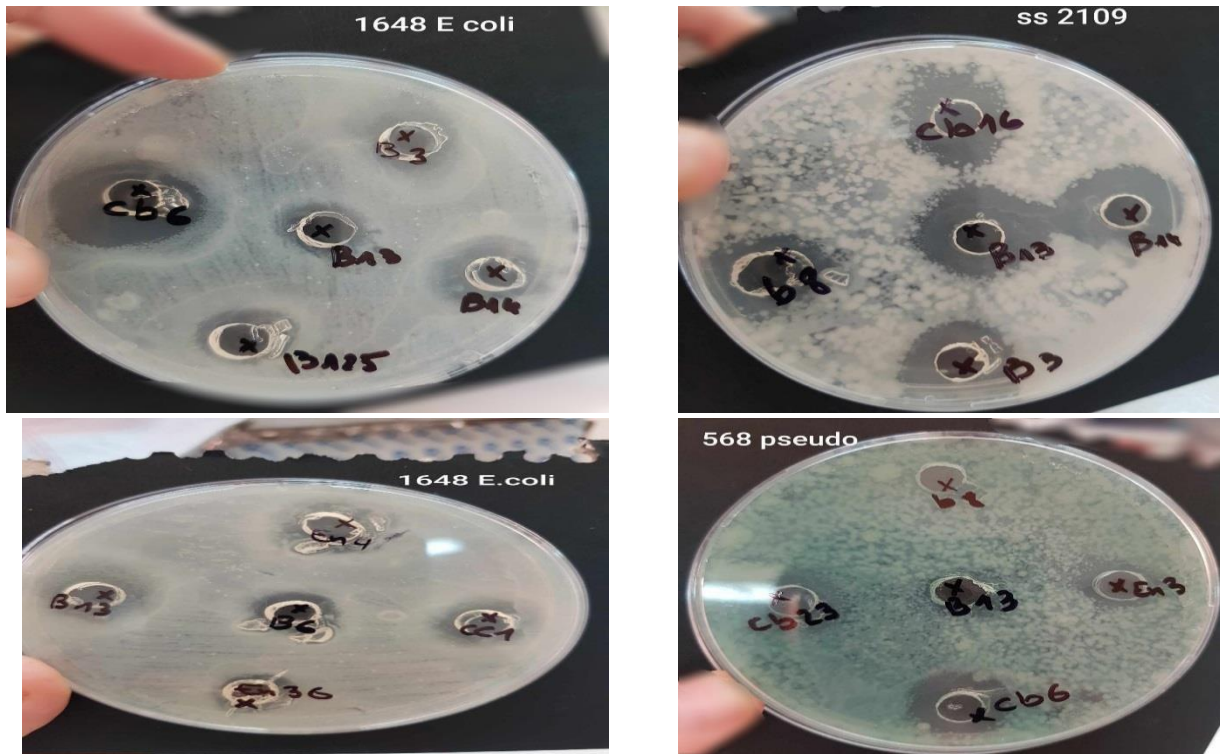
## VII. Activité antimicrobienne de cultures directes

### 1. Activité antibactérienne

La capacité de compétition des bactéries lactiques résulte de leur activité fermentaire associée à la production des divers composés antimicrobiens dans le but d'inhiber la prolifération des microorganismes. Des nombreuses substances à activité antagoniste produites par les bactéries lactiques ont régulièrement été mises en évidence (**Rodrigues et al., 2002**).

Afin d'évaluer leur potentiel antimicrobienne, le spectre d'activité des 25 souches lactiques isolées à partir des produits artisanal a été élargi à une gamme des souches indicatrices pathogènes (31) d'origine clinique et alimentaire à Gram positif et à Gram négatif. La méthode des diffusions des puits sur gélose a été choisie pour cet objectif car c'est une méthode simple qui permet de tester l'effet de plusieurs bactéries lactiques à la fois vis-à-vis d'une souche indicatrice (**Polak Berecka et al., 2009**) Cette activité inhibitrice se traduit par l'apparition d'un halo clair d'inhibition autour des puits ensemencés.

## RESULTATS ET DISCUSSION



**Figure 55** : représentante quelque exemple des zones d'inhibitions des souches pathogènes par les bactéries lactiques.

Les résultats des tests d'interactions des souches lactiques isolées et les souches indicatrices pathogènes sont présentés dans **le Tableau 11**.

- Les résultats sont exprimés en mm, par mesure de la distance entre la limite de la colonie bactérienne et le début de la zone de non inhibition de la souche indicatrice.
- Les souches présentant une zone claire d'extension latérale supérieure à 2 mm sont considérées comme productrices de substances antibactériennes (**Fleming et al., 1975**).

**Tableau 11** : Résultats des interactions entre les souches de bactéries lactiques et les souches pathogènes, En mesurant le diamètre de la zone d'inhibition en mm.

	EN3	EN13	EN4	EN41	EN36	Cb23	Cb6	Cb2	cc1	Cb5	Cb3	Cb15	Cb13	Cb16	CC40	Cb14	Cb51	Cb47	Cb10	B6	B3	B13	B125	B8	B14
<i>Pseudomonas fluerecens</i> 1207	0	0	0	0	0	0	13,2	15.1	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15	0	0	0	18	17
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	17,5	0	0	0	0	11	0	0	0
<i>Staphylococcus saprophytus</i> CCM2635	0	0	0	0	0	12	14	11	0	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14	0	0	10	0	20
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Cet I	0	0	0	0	0	0	0	0	12	0	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	0
<i>Klebsiella pneumniae</i> 1205	0	0	0	0	0	9	10	11	0	0	0	11	11,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	0	0
<i>Escherichia coli</i> SS1951	0	17	14	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	0	0	0	0	0	22	19	25	0	0	26
<i>Esherichia coli</i> 1648	15	16	0	11	0	9	22	0	10	13	0	0	0	9	11	0	0	0	0	14	0	24	18	0	17
<i>Klebsiella sp.</i> E <sub>6</sub>	0	0	13	14	17	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	0	0	13	0	21	0	0	0	12	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 568	14	0	9	0	9	18	16	16	15	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	14
<i>Escheria coli</i>	0	20	0	0	0	0	13	10	0	14	0	0	0	0	0	13	18	19	0	0	0	0	0	0	0

SS2109																									
<i>Proteus vulgaris</i> CECT165	17	18	0	0	0	0	0	16	19	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	16	17	0	12
<i>Staphylococcus aureus</i> 4266	0	0	18	19	0	0	0	0	0	0	0	14	15,7	19	0	0	0	15	17	0	0	0	13	17	
<i>Proteus vulgaris</i> 489	13	0	15	17	0	0	17	14	13,7	0	0	9	9	9	13	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus epidermidis</i> CCM 901	0	0	0	0	0	0	0	10	0	12	0	0	15	0	0	0	15	0	0	0	13	14	0	0	0
<i>Candida sp.</i> E <sub>9</sub>	12	17	18	19	17,5	19	22	27	26	16	0	0	45	62	0	0	17	19	0	0	0	0	0	0	17
<i>Staphylococcus aureus</i> E <sub>6</sub>	0	11	0	0	0	15	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0	17	15	0	0	0	18	13	11,1	14
<i>Listeria monocytogenes</i> 147	0	9	9	0	13	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	17	0	0	13	0	0	0	18	0	0
<i>Bacillus cereus</i> PCM 482	0	0	0	0	14	0	0	0	12	13,7	0	0	0	14	17	13	0	0	0	12	17,1	0	0	14,5	0
<i>Candida sp.</i> E <sub>7</sub> R <sub>2</sub>	17	14	14	17,1	28	17	0	0	17	14	14	16	11	15	16	17	17	0	0	18	19	22	16	17	18

<i>Proteus vulgaris</i> E14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	0	13	0	0	0	15	0	0	0	0	0
<i>Escherichia coli</i> NCTC 100418	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	0	11,7	18	0	0	0	0
<i>Candida</i> sp. E10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0-	13	18	0	0	17	0	0	0	13	0	
<i>Candida</i> sp. K	0	18	17	13	14	15	14	14	15	16	17	11	9	12	18	17	14	11	0	0	0	0	0	16	21	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> I2	0	0	0	0	0	14,3	0	0	13	0	0	13	11	0	0	16	18	0	0	0	18	12	15,3	0	0	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	0	0	0	0	0	0	14,7	18	0	12,7	0	16	0	0	15	0	0	0	0	13	11	14,7	0	0	11	
<i>Enterobacter aerogenes</i> E9	0	0	13	11	0	0	0	14	12	0	0	0	0	0	11	13	17	0	0	14,7	0	11	0	0	0	
<i>Pseudomonas fluorescens</i> L1	13	11	0	0	0	12,8	0	0	16	0	0	0	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
<i>Proteus vulgaris</i> 483P7	13	0	0	0	0	0	0	13,7	0	0	0	11	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	15	0	0	
<i>Candida</i> sp. E6	17	17	16	14	16	17	16,7	0	15	14	14	11	15	0	0	0	0	0	15	14,1	12	13	0	0	11	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> E11	0	0	0	13	0	0	17,5	0	0	13	0	0	0	11	0	0	0	0	13	0	0	12,7	0	0	11	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	0	17	17	19,5	11,1	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	9	0	11	0	0	0	0	0	14	

## RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats présentés dans le tableau montrent que l'activité antimicrobienne des BL ont fluctué entre la petite activité (zone d'inhibition de 9mm) à l'activité la plus élevée (zone d'inhibition 62mm). 17 souches de BL testées ont présenté une action significative par l'inhibition de 12 à 16 souches indicatrices parmi les 31 souches. On note que les deux isolats B6 et B14 ont une forte activité antimicrobienne contre 16 agents pathogènes. Les résultats pourraient impliquer que les BL sont capables de produire des biomolécules actives antibactériennes. De plus, les isolats de BL se sont avérés avoir une activité antibactérienne à large spectre contre les bactéries d'altération et pathogènes Gram positives et négatives.

Les *Enterococcus* démontrent une activité antimicrobienne contre les Gram positive et négative, notamment la souche En41 présente l'activité la plus élevée vis-à-vis *Staphylococcus aureus* 4266 (de diamètre de 19 mm) et En13 par une activité inhibitrice contre *E.coli* SS 2109 (de 20mm). Les BL se sont révélées actives contre les bactéries Gram + et Gram- dans diverses études. Le test de diffusion de puits a été utilisé par **Zuo et al., (2014)** pour évaluer le potentiel antibactérien d'une collection de BL. Les auteurs ont découvert que les BL des quatre genres *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Enterococcus* et *Pediococcus* présentaient une activité inhibitrice contre au moins une des bactéries indicatrices Gram + "*Micrococcus luteus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* et *Salmonella* sp" avec les résultats donnés. Les zones d'inhibition diffèrent selon la bactérie étudiée. En revanche, les six BL obtenus dans l'étude de **Azat et al., (2016)** ont démontré une activité antibactérienne à large spectre contre les bactéries Gram + et Gram-, avec la plus grande zone d'inhibition contre *Escherichia coli* mesurant 6,3 à 10.5 mm de diamètre.

Les Bacilles lactiques aussi ont présenté une activité inhibitrice contre les bactéries pathogènes Gram positives et Gram négative de 9 mm à 26 mm. Concernant les Gram positive, l'activité la plus forte dirigée par la souche B14 contre *Staphylococcus Saprophytus* CCM2635 avec une moyenne de 20 mm. Ces résultats sont d'accord de ceux obtenus par **(Allouche et al. ; 2010)** qui constate que les lactobacilles sont plus actifs contre les souches Gram positives notamment *S. aureus* et *B. subtilis* avec des zones de 12 et 22mm.

Mais concernant les bactéries pathogènes Gram négatives, l'activité inhibitrice la plus importante présente par la souche B13 dirigée contre *E.coli* SS1951 de diamètre de 25 mm nos résultats sont conformes aux résultats de **Mameche (2008)** qui a constaté que les Bacilles ont une activité inhibitrice sur les bactéries à Gram négatif. **Obabiyi et al., (2018)** et **Bouguerra (2021)** aussi ont trouvé que tous les isolats lactiques représentent un effet actif contre les bactéries indicatrices à Gram positive et à Gram négative



Les coques lactiques possèdent également une activité inhibitrice variant de 10 à 19 mm, les souches sont plus actives contre les bactéries à Gram négatives, notamment *Pseudomonas fluorescens* 1207 *Porteuse vulgaris* CECT165 *Candida sp* E7R2 avec des zones de (13. 26. 17mm) contre (0.0, 17 mm) pour les souches gram positives. **Mameche (2008)** remarque aussi que les coques lactiques ont une activité inhibitrice sur les bactéries à Gram négatif élevée (25mm) comparativement à celle obtenue à l'égard des Gram positives (23mm)

### 2. Activité antifongique

Plusieurs études, ces dernières, années ont démontré que les BL peuvent supprimer la croissance de champignons qui causent la détérioration des aliments, tels que *Penicillium sp* (**Barragán-Menéndez et al., 2020**) L'activité antifongique des BL a été testée contre une variété des levures indicatrices d'origine alimentaire et cliniques

Les résultats ont révélé une puissante action antagoniste qui diffère parmi les différentes souches examinées le tableau montre que les souches lactiques testées ont présentées une forte activité antifongique qui se manifesté par l'apparition d'une zone claire variant de 9 à 62 mm. La quantité et la nature des composés bioactifs produits par chaque souche lactique, d'après **Vuyst et al., (2004)**, peuvent expliquer la variance du diamètre des zones d'initiation.

L'activité anti-levure des membres de *Lactobacillus* représentés dans le tableau peut être comparée aux découvertes **d'Atanassova et al., (2003)**, qui a trouvé que *Lh. paracasei* subsp. *paracasei* M3 avait une activité antifongique contre *Candida albicans*, *Candida pseudointermedia* et *Candida blankii*. De même **Abid, (2015)** trouve que les diamètres des zones d'inhibition de bactéries lactiques isolées du lait cru de vache peuvent atteindre environ 20 mm.

**Magnusson et al., (2003)** ont montré dans leurs recherches qu'un dipeptide cyclique métabolisé par les BL. Était la molécule bioactive responsable de l'efficacité antifongique, et que la distribution de produits chimiques antifongiques puissants était largement dispersée parmi différentes espèces de BL. Cela pourrait expliquer la puissance antifongique de nos isolats adaptés à différents genres et appartenant à différentes espèces. Il faut souligner que la souche CB16 avait la plus haute efficacité, avec une inhibition de la croissance de 62 mm contre *candida SP E9*. En comparaisons avec les travaux de **Ogunshe et al., (2011)** qui ont trouvé que à partir de 20 isolats de *Lactobacillus* provenant d'écouvillonnages endocervicaux et vaginaux chez des patients malades, le surnageant acellulaire des cultures de *Lb. acidophilus* et *Lb. plantarum* avait une activité antifongique contre les agents pathogènes *Candida sp* avec des zones inhibitrices qui allaient d'une sensibilité faible (10,0 à 18.0 mm de

## RESULTATS ET DISCUSSION

diamètre) à une sensibilité modérée (20,0 à 25,0 mm de diamètre) Nos souches sont plus actives.

D'après ce qui précède, il est clair que les BL, qui ont des propriétés antifongiques et sont généralement considérées comme des démarreurs microbiens inoffensifs, peuvent être un outil efficace pour contrôler ou ralentir la croissance des moisissures dans diverses situations

### VIII. Activité antimicrobienne des surnagants:

L'activité antimicrobienne des souches lactiques sélectionnées a été révélée ainsi par la méthode indirecte après l'utilisation de surnagent lactique traité par les bases et les acides afin d'éliminer l'effet antagonisme des acides organiques et les résultats sont mentionnés dans le tableau ci-dessus.

**Tableau 12 :** les Résultats des interactions entre le surnageant de bactéries lactiques et les souches indicatrices pathogènes en( mm)

	EN3	EN13	EN4	EN41	EN36	Cb23	Cb6	Cb2	cc1	Cb5	Cb3	Cb15	Cb13	Cb16	CC40	Cb14	Cb51	Cb47	Cb10	B6	B3	B13	B125	B8	B14
<i>Pseudomonas fluerecens</i> 1207	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	16
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	17	0	0	0	0	12	0	0	0
<i>Staphylococcus saprophytus</i> CCM2635	0	0	0	0	0	0	0	11	0	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14	0	0	10	0	18
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Cet I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	0
<i>Klebsiella pneumniae</i> 1205	0	0	0	0	0	10	10	11	0	0	0	11	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Escherichia coli</i> SS1951	0	16	14,7	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	19	25	0	0	26
<i>Escherichia coli</i> 1648	15	16	0	11	0	9	22	0	10	13	0	0	0	0	11	0	0	0	0	0	0	23	18	0	17

<i>Klebsiella</i> sp. E <sub>6</sub>	0	0	13	14	17	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	0	0	13	0	11	0	0	0	12	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 568	14	0	9	0	9	15	16	16	15	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	14
<i>Escheria coli</i> SS2109	0	20	0	0	0	0	0	0	0	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Proteus vulgaris</i> CECT165	17	18	0	0	0	0	0	16	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	16	17	0	12
<i>Staphylococcus aureus</i> 4266	0	0	18	19	0	0	0	0	0	0	0	14	15,7	7	0	0	0	0	15	0	0	0	0	13	17
<i>Proteus vulgaris</i> 489	13	0	15	17	0	0	17	14	13,7	0	0	9	9	7	13	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Staphulococcus epidermidis</i> CCM 901	0	0	0	0	0	0	0	10	0	12	0	0	15	0	0	0	15	0	0	0	13	14	0	0	0
<i>Candida</i> sp.E <sub>9</sub>	9	17	18	19	13,5	19	22	17	14	16	0	0	15	14	0	0	17	19	0	0	0	0	0	0	17
<i>Staphylococcus aureus</i> E <sub>6</sub>	0	11	0	0	0	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	15	0	0	0	18	13	11,1	14
<i>Listeria monocytogenes</i> 147	0	9	9	0	13	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	17	0	0	13	0	0	0	18	0	0
<i>Bacillus cereus</i> PCM 482	0	0	0	0	14	0	0	0	12,8	11	0	0	0	0	17	13	0	0	0	0	0	0	0	14,5	0
<i>Candida</i> sp. E <sub>7</sub> R <sub>2</sub>	11	0	0	0	0	0	0	0	11	13	14	16	11	0	14	14	14	0	0	0	0	0	14	11	0

<i>Proteus vulgaris</i> E14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0
--------------------------------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----	---	---	---	---	---	---	---	---	---

<i>Escherichia coli</i> NCTC 100418	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	18	0	0	0	0
<i>Candida</i> sp. E10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0-	13	18	0	0	7	0	0	0	13	0
<i>Candida</i> sp. K	0	0	0	11	11	0	0	0	15	16	17	11	9	7	11	17	14	11	0	0	0	0	0	16	13,7
<i>Klebsiella pneumoniae</i> I2	0	0	0	0	0	14,3	0	0	13	0	0	13	11	0	0	16	18	0	0	0	18	12	15,3	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	0	0	0	0	0	0	14,7	18	0	12,7	0	16	0	0	15	0	0	0	0	13	11	14,7	0	0	11
<i>Enterobacter aerogenes</i> E9	0	0	13	11	0	0	0	14	12	0	0	0	0	0	11	13	17	0	0	0	0	11	0	0	0
<i>Pseudomonas fluorescens</i> L1	13	11	0	0	0	12,8	0	0	16	0	0	0	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Proteus vulgaris</i> 483P7	13	0	0	0	0	0	0	13,7	0	0	0	11	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	15	0	0
<i>Candida</i> sp. E6	17	17	16	14	16	17	16,7	0	15	14	14	11	15	0	0	0	0	0	15	14,1	12	13	0	0	11
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	0	15	15	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	12	0	0	0	0	0	14

## RESULTATS ET DISCUSSION

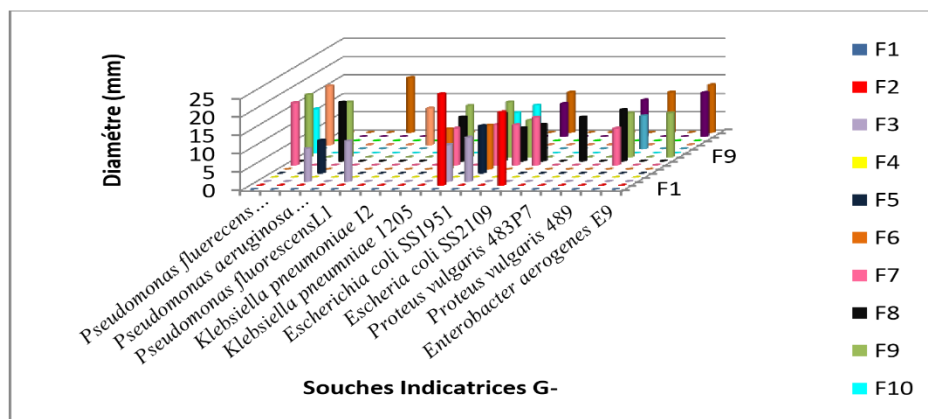
Les résultats des tableaux illustrent l'activité antagoniste de 25 surnageant de souches lactiques vis-à-vis à 31 souches indicatrice pathogènes. Les diamètres d'inhibition présentent par les surnageant variant entre 9 à 26 mm. B14 était la souche qui à montrer l'activité la plus forte avec une inhibition de 26 mm dirigé contre *Escherichia coli SS1951*

Le surnageant de *Lactobacillus* possèdent une activité inhibitrice avec un pourcentage différent, cette inhibition est meilleure pour les bactéries à gram négatif et gram positif L'effet inhibiteur de ces bactéries contre les souches pathogènes est en général dû à une compétition aux nutriments. Mais la méthode de défense varie par fois : grâce au contact des membranes soit due à la complémentarité du récepteur, soit à partir des signaux, ou bien par la sécrétion des molécules à faible poids moléculaire tel que H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> et l'acide lactique ou les molécules à poids moléculaire élevé comme les bacteriocines. De plus, ces souches lactiques n'influencent pas les souches à gram positif par le contact direct (Morchid el Idrisi, 2017). Pour le surnageant des *Enterococcus* ont présenté une faible activité contre les bactéries à Gram negatives, il faut signaler que le surnageant des souches En3. En4. En13. En41 ont ne présentant aucune activité contre les souches indicatrice *Pseudomonas fluorescens* 1207, *klebsiella pneumonie ATCC 13883*, *Staphylococcus Saprophytus CCM2635* *Pseudomonas aurogenas Cetl*, *Klebsiella pneumonie 1205*. Alors que En13 montre l'activité la plus forte vis-à-vis à *Escherichia coli SS2109*.

### IX. Activité antimicrobienne des ferments mixtes

#### 1. Activité antibactérienne

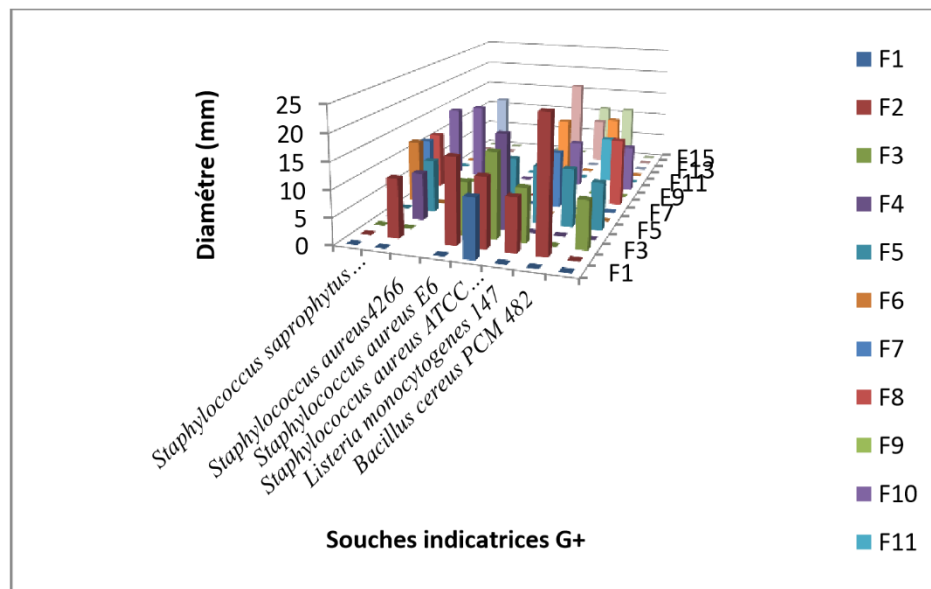
L'activité antibactérienne des 15 ferments mixtes vis-à-vis 31 souches indicatrices pathogènes a été évaluée afin de mettre en évidence un éventuel pouvoir antagonisme. Les



résultats de ce test sont illustrés dans les figures

## RESULTATS ET DISCUSSION

**Figure 56** : l'activité antibactérienne des ferments mixtes vis-à-vis des souches indicatrices à Gram négatives.



**Figure 57** : l'activité antibactérien des mixtes vis-à-vis des souches indicatrices à Gram positives.

Les résultats présentés dans la **figure 57** montrent que les ferments F6, F7, F9, F12 possèdent l'activité inhibitrice la plus élevée contre les souches indicatrices à Gram négatives, avec des pourcentages différents, notamment un diamètre des zones d'inhibition qui égale à 16 mm pour les trois ferments F7, F9, F12 contre *Pseudomonas fluorescens* 1207 et un diamètre de 15 mm pour le ferment F15 contre *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 2907. Alors que, les ferments F1 et F4 ne manifestent aucun effet antagonisme contre les souches indicatrices Gram négatives.

Par contre les ferments ont présenté une activité inhibitrice vis-à-vis à toutes les souches indicatrices à Gram positives diffère par les différentes souches, il faut noter que les deux ferment lactiques F2 et F14 montrent l'activité la plus forte vis-à-vis à la souche indicatrice *Listeria monocytogenes* 147 (14, 17) respectivement. **Onda et al., (2003)** suggèrent que les bactéries gram positif sont généralement plus sensibles à l'effet bactericide des bactéries lactiques.

Ces résultats indiquent que nos bactéries lactiques sont capables de synthétiser des substances inhibitrices ayant une activité antibactérienne. L'ensemble des souches pures et ferments mixtes ne présentent pas le même spectre d'action vis-à-vis des bactéries pathogènes.

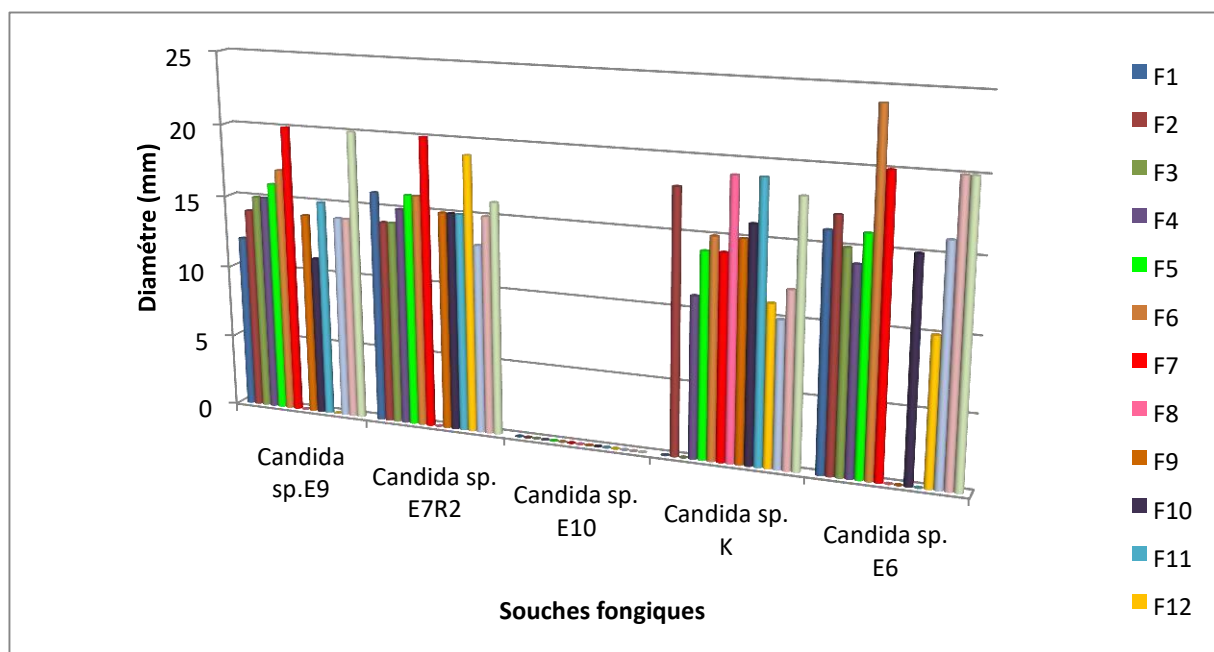
### 2. Activité antifongique :

D'après les résultats obtenus (**Figure 58**), nous constatons que l'activité antibactérienne des ferments mixtes et des souches pures sont semblable. En effet, les diamètres des zones

## RESULTATS ET DISCUSSION

d'inhibitions étaient compris entre 10 et 24mm L'activité inhibitrice vis-à-vis de *Candida SP* E10. Était totalement absente. Il apparaît que les ferments F6, F7, F15 présentent une bonne activité antimicrobienne contre *Candida SP cc*, *Candida Sp E7R2*, *Candida SP E9* respectivement.

D'après les résultats précédents les souches lactiques isolées et les ferments mixtes ont des propriétés antifongiques importantes. La capacité inhibitrice in vitro des bactéries lactiques vis-à-vis des germes pathogènes semble être une bonne propriété probiotique, comme elle peut jouer un rôle dans la préservation de la qualité hygiénique des denrées alimentaires (Ammor et al., 2006).

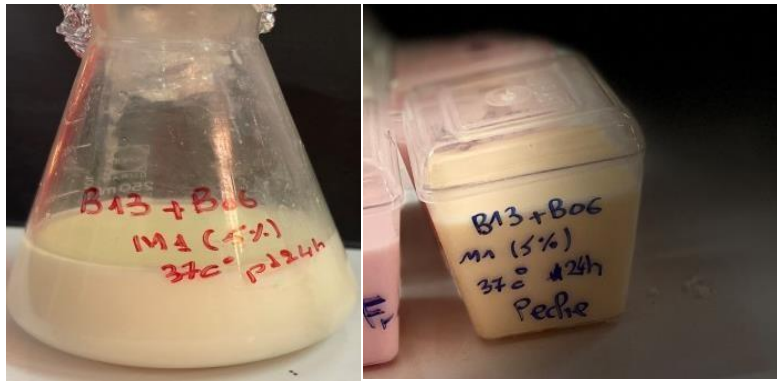


**Figure 58** : activité antifongique des ferments mixtes vis-à-vis des souches indicatrices.

### X. Préparation et bio-aromatisation de yaourt

Après avoir criblé les souches lactiques les plus pertinentes, les ferments B06 et B13 ont été choisis. Les deux ferments probiotiques ont été utilisés pour fabriquer un yaourt probiotique (**Figure n°59**), qui a ensuite été soumis à un traitement aromatisant et à une analyse physico-chimique et microbiologique. La teneur en protéine était de 4,47 %, de la matière grasse était de 1,67 % et 0,99 % a été enregistré pour la salinité. Ceci est en corrélation avec les travaux de (Ramírez-Sucre et Vélez-Ruiz, 2013 ; Lee et al., 2021).





**Figure n°59** : Photos représentatif de yaourt probiotique préparé

L'acidité intrinsèque du lait est due à sa teneur en caséine de 80%, cependant la baisse du pH peut être induite chimiquement par la formation de gels acide-caséine ou simplement par fermentation avec les BL (**Kiani et al., 2010**). L'abaissement du pH ainsi que la génération d'acide lactique dans le yaourt fabriqué par les levains lactiques a été fixée sur 6,10 et 7g/l respectivement. Selon (**Zhao et al., 2016**), cet abaissement est le clé dans la fabrication de yaourt par les ferments lactiques.

Pour le contrôle microbiologique aucune détection d'agent pathogène n'a été trouvée, ceci est dû par le fait de la présence des BL dans tous les aliments fermentés les produits laitiers ont une longue histoire d'utilisation sûre (**Kasra-Kermanshahi et al., 2015**).

L'ajout des additifs naturels a entraîné également un effet positif sur l'acceptabilité sensorielle (en vue primaire) sur le produit préparé.

# **CONCLUSION**

### Conclusion

Les bactéries lactiques sont utilisées depuis l'Antiquité pour la préparation et la conservation des aliments. Leur effet sur le lait a probablement été découvert par hasard, mais leur utilisation s'est poursuivie sous forme d'agents de fermentation et est en constante évolution. L'objectif de ce travail était de constituer une collection de souches de bactéries lactiques à usage alimentaire et de sélectionner des souches à potentiel probiotique.

A l'issue des travaux, 46 souches ont été isolées et purifiées à partir de plusieurs produits fermentés (12) échantillons de RAIB - (06) échantillons de Bouhezza \_ (10) échantillons des plantes fermentées artisanaux « Mraged » à partir de différentes wilayat d'Algérie ; dans le milieu MRS. L'identification phénique de ces isolats a orienté leur classification vers le genre *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus* et *Carnobacterium*.

Vingt-cinq souches ont été choisies pour former des ferments mixtes et des ferments simples, démontrant ainsi un pouvoir technologique important des souches isolées. Pour choisir un ferment technologique ayant un effet probiotique, les deux types de ferments sont soumis à un test probiotique. Les ferments avaient une forte activité mise en jeu dans l'industrie du yaourt. Ainsi, nos bactéries lactiques sont capables de synthétiser des substances inhibitrices à activité antibactérienne, car elles ont montré une bonne hydrophobicité et un bon auto-agrégation. Cependant, une résistance modérée aux antibiotiques a été observée. Surtout pour les souches de genre *Lactobacillus*, selon la littérature ce genre est fréquemment utilisé comme levain dans de nombreux types de fromages, aliments fermentés, légumes et viandes fermentées (Leory et de Vuyst, 200

Le yaourt produit par les deux ferments de *Lactobacillus* choisir à montrer des teneurs importantes pour sa composition chimique et une innocuité microbiologique.

En conclusion, l'étude des isolats lactiques a montré des qualités technologiques et probiotiques pertinentes qui peuvent être utilisées pour améliorer la qualité organoleptique du produit tout en empêchant la croissance de microorganismes contaminants.

### Perspectives :

- L'identification moléculaire des ferments
- La production des autres denrées alimentaires telles les fromages affinés
- L'optimisation de la production
- L'étude de l'effet des arômes naturel additionnée au yaourt au cours de conservation
- L'utilisation des autres gammes des additifs naturel

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A/

**Abdalahim S., Abdel Naser A., Khider Z.M., Kamal El-Dean A.M., Hussein H. Ahmad A.I and Elbanna K, (2019).** Phenotypic and Genotypic Characterization of Exopolysaccharide Producing Bacteria Isolated from Fermented Fruits, Vegetables and Dairy Products, *Journal of Pure and Applied Microbiology*. 13(3):1349-1362. <https://doi.org/10.22207/JPAM.13.3.06>.

**Abdulla, AA, Abed, TA et Saeed, AM (2014).** Adhésion, autoagrégation et hydrophobicité de six souches de *Lactobacillus*. *Journal britannique de recherche en microbiologie*, 4 (4), 381-391.

**ABID, Z. (2015).** *Étude de l'activité antimicrobienne des souches de bactéries lactiques isolées d'un produit laitier traditionnel algérien « Jben »* (Thèse de doctorat).

**Ait-Belgnaoui, A., Han, W., Lamine, F., Eutamene, H., Fioramonti, J., Bueno, L., & Theodorou, V. (2006).** Lactobacillus farciminitreatments upper seamstressnducedviscerallhypersensitivity:a possible action through interaction with pithelialcellcytoskeleton contraction. *Gut*, 55(8), 1090–1094.μ

**Albayrak, C. B., & Duran, M. (2021).** Isolation and characterization of aroma producing lactic acid bacteria from artisanal white cheese for multifunctional properties. *Food Science and Technology*, 150, 112053.

**ALIOUA, H., FERRACHE, A. N., & BOUCHEFRA, A. E. (2018).** Contrôle de la qualité des yaourts probiotiques et enquête alimentaire (Doctoral dissertation, Université de Jijel).

**Allouche, F. N., Hellal, A., & Laraba, A. (2010).** Etude de l'activité antimicrobienne des souches de lactobacilles thermophiles utilisées dans l'industrie laitière. *Nature & Technology*, (3), 13.

**Ammor, M. S., & Mayo, B. (2007).** Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update. *Meat science*, 76(1), 138–146.

**Ammor, MS, Flórez, AB et Mayo, B. (2007).** Résistance aux antibiotiques chez les bactéries lactiques non entérocoques et les bifidobactéries. *Microbiologie alimentaire*, 24 (6), 559-570.

**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: 1—Screening and characterization of the antibacterial compounds. *Food control*, 17(6), 454-461.

**Anderson, RC, Genovese, KJ, Harvey, RB, Callaway, TR, Nisbet, DJ, Goktepe, I., & Ahmedna, M. (2006).** Applications de sécurité alimentaire avant la récolte des cultures d'exclusion compétitives et des probiotiques. *Les probiotiques dans la sécurité alimentaire et la santé humaine*, 273-284.

**Atanassova, M., Choiset, Y., Dalgalarondo, M., Chobert, JM, Dousset, X., Ivanova, I., & Haertlé, T. (2003).** Isolement et caractérisation biochimique partielle d'un composé protéique anti-bactérien et anti-levure produit par *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* souche M3. *Journal international de microbiologie alimentaire*, 87 (1-2), 63-73.

**Azat, R., Liu, Y., Li, W., Kayir, A., Lin, DB, Zhou, WW et Zheng, XD (2016).** Propriétés probiotiques des bactéries lactiques isolées du fromage du Xinjiang fermenté traditionnellement. *Journal de l'Université du Zhejiang. Science. B*, 17 (8), 597.

B/

**Banwo, K., Sanni, A. et Tan, H. (2013).** Propriétés technologiques et potentiel probiotique des souches d'*Enterococcus faecium* isolées du lait de vache. *Tourillon de microbiologie appliquée*, 114 (1), 229-241.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Béal, C., Marin, M., Fontaine, E., Fonseca, F. F., & Obert, J. P. (2008).** Production et conservation des ferments lactiques et probiotiques.
- BECHOUA, S., KOUIDRI, N., & AHMIMID, Z. (2022).** Contribution à l'étude de l'effet probiotique des bactéries lactiques isolées à partir du lait camelin sur les troubles intestinaux chez les rats Wistar.
- Begley, M., Gahan, CG et Hill, C. (2005).** L'interaction entre les bactéries et la bile. *Revue de microbiologie FEMS*, 29 (4), 625–651.
- Belhamra, Z. (2017).** Croissance et survie des probiotiques en présence des édulcorants et des additifs alimentaires. Thèse de doctorat) Université Ferhat Abbas Sétif.
- Bellon-Fontaine, MN, Rault, J., & Van Oss, CJ (1996).** Adhésion microbienne aux solvants : une nouvelle méthode pour déterminer les propriétés donneur d'électrons/accepteur d'électrons ou acide-base de Lewis des cellules microbiennes. *Colloïdes et surfaces B : Biointerfaces*, 7 (1-2), 47-53.
- Beneficial bacteria from the dairy environment and development of fermented milk with the beneficial strain *Lactobacillus casei* MRUV6. *Journal of Dairy Research*. 87(2): 259 - 262.
- Bernet-Camard, M. F., Liévin, V., Brassart, D., Neeser, J. R., Servin, A. L., & Hudault, S. (1997).** The human *Lactobacillus acidophilus* strain LA1 secretes a nonbacteriocin antibacterial substance (s) active in vitro and in vivo. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(7), 2747-2753.
- Bintsis, T. (2018).** Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics. *AIMS microbiology*, 4(4), 66
- Bjorklund, H., Bondestam J. and Bylund G. (1990):** Residues of oxytetracycline in wild fish and sediments from fish farms. *Aquaculture* 86: 359-367.
- Botes, M., van Reenen, CA, & Dicks, LM (2008).** Évaluation d'*Enterococcus mundtii* ST4SA et de *Lactobacillus plantarum* 423 en tant que probiotiques en utilisant un modèle gastro-intestinal avec des formulations de lait infantile comme substrat. *Journal international de microbiologie alimentaire*, 128 (2), 362-370.
- Boulahrouf, A., & Bahri, F. (2017).** Isolation et caractérisation des souches de lactobacilles à caractères probiotiques à partir de selles d'enfants.
- Boultif, Y., Zeghouani, C., & OuledHaddar, H. E. (2021).** *Isolement de quelques bactéries lactiques tolérantes au cuivre à partir du lait et dérivés pour une éventuelle application en bio-rémediation* (Doctoral dissertation, Université de jijel).
- Bourgeois C.M. et Larpent J.P., 1996.** Microbiologie alimentaire : Aliments fermentés et fermentations alimentaires. Tec & Doc, Lavoisier. Paris. 432-704.
- BOUZAID, M., CHATOUI, R., HASIB, A., & MENNANE, Z. (2012).** Qualité hygiénique du lait de colportage prélevé des points de vente de la ville de Rabat. *Les technologies de laboratoire*, 7(26)
- Bouzaid, M., Chatoui, R., Latrache, H., & Hasib, A. (2016).** Activité antimicrobienne des souches de bactéries lactiques isolées de viande hachée de dromadaire et du lait cru de vache (Maroc). *Revue de Microbiologie industrielle, sanitaire et environnemental*, 10(1), 1-12.
- Bragason, E., Berhe, T., Dashe, D., Sørensen, KI, Guya, ME et Hansen, EB (2020).** Activité antimicrobienne de nouvelles souches de *Lactococcus lactis* contre *Salmonella Typhimurium* DT12, *Escherichia coli* O157 : H7 VT– et *Klebsiella pneumoniae* dans le lait de chamelle cru et pasteurisé. *Journal laitier international*, 111, 104832.
- Burns, P., Vinderola, G., Binetti, A., Quiberoni, A., de Los Reyes-Gavilan, CG et Reinheimer, J. (2008).** Dérivés résistants à la bile obtenus à partir de lactobacilles laitiers non intestinaux. *Journal laitier international*, 18 (4), 377-385.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

C/

**Cabo, M. L., Braber, A. F., & Koenraad, P. M. F. J. (2002).** Apparent antifungal activity of several lactic acid bacteria against *Penicillium discolor* is due to acetic acid in the medium. *Journal of Food Protection*, 65(8), 1309-1316.

**Carminati, D., Giraffa, G., Quiberoni, A., Binetti, A., Suárez, V., & Reinheimer, J. (2010).** Advances and trends in starter cultures for dairy fermentations. *Biotechnology of lactic acid bacteria: Novel applications*, 177, 177-192.

**Cerning J., 1990.** Exocellular polysaccharide produced by lactic acid bacteria. *Microbiol. Rev.* 87:113-130.

**Chamba, J. F. (2008).** Application des bactéries lactiques lors des fabrications fromagères. *Bactéries lactiques-De la génétique aux ferments*. Lavoisier, Paris, 787-815.

**Charteris, W. P., Kelly, P. M., Morelli, L., & Collins, J. K. (2001).** Gradient diffusion antibiotic susceptibility testing of potentially probiotic lactobacilli. *Journal of food protection*, 64(12), 2007-2014.

**Chaves-López, C., Serio, A., Martuscelli, M., Paparella, A., Osorio-Cadavid, E., & Suzzi, G. (2011).** Caractéristiques microbiologiques du kumis, un lait colombien fermenté traditionnel, avec un accent particulier sur la population d'entérocoques. *Microbiologie alimentaire*, 28 (5), 1041-1047.

**Chen, C., Zhao, S., Hao, G., Yu, H., Tian, H., & Zhao, G. (2017).** Role of lactic acid bacteria on the yogurt flavour: A review. *International Journal of Food Properties*, 20(sup1), S316-S330.

**CHENTOUF, H. F.** Effet des substances antimicrobiennes produites par *Leuconostoc mesenteroides* isolées à partir du lait cru de chamelle d'Algérie sur la croissance de *Listeria monocytogenes* dans les produits alimentaires (Doctoral dissertation, Université d'Oran1-Ahmed Ben Bella).

**Choisy, C., Desmazeaud, M., Gueguen, M., Lenoir, J., Schmidt, J. L., & Tourneur, C. (1997).** Les phénomènes microbiens.

**Cholet, O. (2006).** *Etude de l'écosystème fromager par une approche biochimique et moléculaire* (Doctoral dissertation, INAPG (AgroParisTech)).

**Christiaens, H., Leer, R.J., Pouwels, P.H. et Verstraete, W. (1992).** Clonage et expression d'un gène d'hydrolase d'acide biliaire conjugué de *Lactobacillus plantarum* en utilisant un essai direct sur plaque. *Microbiologie appliquée et environnementale*, 58 (12), 3792-3798.

**Chukwudi, C. U. (2016).** rRNA binding sites and the molecular mechanism of action of the tetracyclines. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 60(8), 4433-4441.

**Colombo M., Todorov S.D., Carvalho A.F and Nero L.A. (2019).** Technological properties of

D/

**Dal Bello B., Cocolin L., Zeppa G., Field D., Cotter P.D. and Hill C.**

**(2012).** Technological characterization of bacteriocin producing *Lactococcus lactis* strains employed to control *Listeria monocytogenes* in Cottage cheese. *International Journal of Food Microbiology*. 153:58–65

**De Giori, G. S., & Hébert, E. M. (2001).** Methods to determine proteolytic activity of lactic acid bacteria. *Food microbiology protocols*, 197-202.

**Del Re, B., Sgorbati, B., Miglioli, M., & Palenzona, D. (2000).** Adhesion, autoaggregation and hydrophobicity of 13 strains of *Bifidobacterium longum*. *Letters in applied microbiology*, 31(6), 438-442.

**Dellaglio, F., De Roissart, H., Torriani, S., Curk, M. C., & Janssens, D. (1994).** Caractéristiques générales des bactéries lactiques. *Bactéries lactiques*, 1, 25-116.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- DELLALI, A., KARAM, H. Z., & KARAM, N. E. (2020).** Lipase and esterase activities of lactic acid bacteria isolated from different biotopes. *African Journal of Biotechnology*, 19(4), 156-164.
- Demirci., Göktepe, C. K., Öztürk, H. L, Akin, N., Akyol, I., & Dertli, E. (2021).** Prevalence and fingerprinting of lactic acid bacteria community during 180 days of ripening in traditional Turkish goatskin bag Tulum cheeses produced in the mountainous region of Karaman.
- Desmazeaud M., 1992.** Les bactéries lactiques in : Les groupes microbiens d'intérêt laitier. Dhaisne, A., Guellerin, M., Laroute, V., Laguerre, S., Coccagn-Bousquet, M., Le Bourgeois, P., & Loubiere, P. (2013). Genotypic and phenotypic analysis of dairy *Lactococcus lactis* biodiversity in milk: volatile organic compounds as discriminating markers. *Applied and environmental microbiology*, 79(15), 4643-4652.
- Di Cagno, R., Coda, R., De Angelis, M., & Gobbetti, M. (2013).** Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation. *Food microbiology*, 33(1), 1–10.
- Dixon, B. (1994):** Antibiotic resistance of bacterial fish pathogens. *J. World Aquacult. Soc.* 25: 60-63.  
doi.org/10.1017/S0022029920000308.
- Doleyres, Y. (2003).** Production en continu de ferments lactiques probiotiques par la technologie des cellules immobilisées (Doctoral dissertation, Université Laval).
- Donkor O.N., Henriksson A., Vasiljevic T. et Shaha N.P., 2007.** Proteolytic activity of dairy lactic acid bacteria and probiotics as determinant of growth and in vitro angiotensin converting enzyme inhibitory activity in fermented milk. *INRA, EDP Sciences*. 86 : 21-38.
- Donohue, D. C. (2004).** Safety of novel probiotic bacteria. *Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects*, (Ed. 3), 531-546.
- E/**
- El-Ghaish, S., Ahmadova, A., Hadji-Sfaxi, I., El Mecherfi, K. E., Bazukyan, I., Choiset, Y., ... & Haertlé, T. (2011).** Potential use of lactic acid bacteria for reduction of allergenicity and for longer conservation of fermented foods. *Trends in food science & technology*, 22(9), 509-516.
- Elo, S., Saxelin, M., & Salminen, S. (1991).** Attachment of *Lactobacillus casei* strain GG to human colon carcinoma cell line Caco-2: comparison with other dairy strains. *Letters in Applied Microbiology*, 13(3), 154-156.
- Erginkaya, ZERR ©. N., Turhan, EU, & Tatli, D. (2018).** Détermination de la résistance aux antibiotiques de bactéries lactiques isolées à partir de produits laitiers fermentés traditionnels turcs. *Revue iranienne de recherche vétérinaire*, 19 (1), 53 .
- F/**
- FAO, W. H. O. (2001)** .Probiotic definition.
- G/**
- Gagetti, P., Bonofiglio, L., García Gabarrot, G., Kaufman, S., Mollerach, M., Vigliarolo, L., ... & Lopardo, HA (2019).** Resistencia a los  $\beta$ -lactámicos en enterococos. *Revista Argentina de microbiología*, 51 (2), 179-183.
- Gao, J., Li, X., Zhang, G., Sadiq, FA, Simal, Gandara, J., Xiao, J., & Sang, Y. (2021).** Les probiotiques dans l'industrie laitière — Avancées et opportunités. *Examens complets en science alimentaire et sécurité alimentaire*, 20 (4), 3937-3982.
- Gibson, T., & Abdel-Malek, Y. (1945).** 319. The formation of carbon dioxide by lactic acid bacteria and *Bacillus licheniformis* and a cultural method of detecting the process. *Journal of Dairy Research*, 14(1-2), 35-44.
- Grill, JP, Perrin, S., & Schneider, F. (2000).** Toxicité des sels biliaires pour certaines souches de bifidobactéries : rôle de l'hydrolase des sels biliaires conjugués et du pH. *Journal canadien de microbiologie*, 46 (10), 878–884.



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Guan, C., Tao, Z., Wang, L., Zhao, R., Chen, X., Huang, X., ... & Gu, R. (2020).** Isolation of novel *Lactobacillus* with lipolytic activity from the vinasse and their preliminary potential using as probiotics. *AMB Express*, 10, 1-11.

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

**Guglielmotti, DM, Marcó, MB, Golowczyc, M., Reinheimer, JA et Quiberoni, ADL (2007).** Potentiel probiotique des souches de *Lactobacillus delbrueckii* et de leurs mutants résistants aux phages. *Journal laitier international* , 17 (8), 916-925.

**Guiraud, J., & Galzy, P. (1980).** L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. (*No Title*).

**H/**

**Hadef, S., & El Hadj-Khelil, O. (2012).** Evaluation des aptitudes technologiques et probiotiques des bactéries lactiques locales (Doctoral dissertation).

**Hammi, I. (2016).** Isolement et caractérisation de bactériocines produites par des souches de bactéries lactiques isolées à partir de produits fermentés marocains et de différentes variétés de fromages français (Doctoral dissertation, Strasbourg).

**Hamon, E., Horvatovich, P., Izquierdo, E., Bringel, F., Marchioni, E., Aoudé-Werner, D., & Ennahar, S. (2011).** Comparative proteomic analysis of *Lactobacillus plantarum* for the identification of key proteins in bile tolerance. *BMC microbiology*, 11, 1-11.

**Hyronimus, B., Le Marrec, C., Sassi, AH, & Deschamps, A. (2000).** Tolérance à l'acide et à la bile des bactéries lactiques sporulées. *Journal international de microbiologie alimentaire* , 61 (2-3), 193-197.

**I/**

**Ishibashi, N. (1993).** Bifidobacteria: research and development in Japan. *Food Technol.*, 47, 126-135.

**Iyer, R., Tomar, S. K., Maheswari, T. U., & Singh, R. (2010).** Streptococcus thermophilus strains: Multifunctional lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 20(3), 133-141.

Izquierdo Alegre, E. (2009). *Les protéines bactériennes en tant que biomarqueurs de l'activité probiotique* (Doctoral dissertation, Strasbourg).

**J/**

**Jeong, D., Kim, D. H., Kang, I. B., Kim, H., Song, K. Y., Kim, H. S., & Seo, K. H. (2017).** Characterization and antibacterial activity of a novel exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefirifaciens* DN1 isolated from kefir. *Food Control*, 78, 436-442.

**Juillard, V., Spinnler, H. E., Desmazeaud, M. J., & Boquien, C. Y. (1987).** Phénomènes de coopération et d'inhibition entre les bactéries lactiques utilisées en industrie laitière. *Le lait*, 67(2), 149-172.

**K/**

**Ketrouci, L., Dalache, F., Benabdelmoumene, D., Dahou, A. A., & Homrani, A. (2021).** Technological Characterization of Lactic Acid Bacteria Isolated from Different Sheep's Milk. *Asian Journal of Dairy & Food Research*, 40(3).

**Kimoto-Nira, H., Kobayashi, M., Nomura, M., Sasaki, K. et Suzuki, C. (2009).** La résistance à la bile des souches de *Lactococcus lactis* varie avec la composition cellulaire en acides gras : analyse en utilisant différents milieux de croissance. *Journal international de microbiologie alimentaire* , 131 (2-3), 183-188

**Koll, P., Mändar, R., Marcotte, H., Leibur, E., Mikelsaar, M. et Hammarström, L. (2008).** Caractérisation des lactobacilles oraux comme probiotiques potentiels pour la santé bucco-dentaire. *Microbiologie et immunologie orales* , 23 (2), 139-147. **L/**

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- LABIOUI, H., ELMOUALDI, L., EL YACHIOUI, M., & OUHSSINE, M. (2005).** Sélection de souches de bactéries lactiques antibactériennes. *Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux*, 144 (3-4), 237-250.
- Laffargue, C. (2015).** Intérêt des probiotiques dans la prévention de pathologies et conseils en officine (Doctoral dissertation, Université Toulouse III-Paul Sabatier).
- Lamoureux L.,( 2000).** Exploitation de l'activité B-galactosidase de cultures de bifidobactéries en vue d'enrichir des produits laitiers en galacto-oligosaccharides. National Library of Canada.23-47.
- Larsen raúl F. et Añónmaría C. 1989-1990.** Interaction of Antibiotics and Water Activity on *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. *J. Food Sci.* 54:4. p.922–924.
- Leksir, C., Boudalia, S., Moujahed, N., & Chemmam, M. (2019).** Traditional dairy products in Algeria: case of Klila cheese. *Journal of Ethnic Foods*, 6(1), 1-14.
- Leroy, F., & De Vuyst, L. (2004).** Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology*, 15(2), 67-78.
- Leveau, J. Y., & Bouix, M. (1993).** Microbiologie industrielle: les micro-organismes d'intérêt industriel.
- LILLY, D. M., & STILLWELL, R. H. (1965).** PROBIOTICS: GROWTH-PROMOTING FACTORS PRODUCED BY MICROORGANISMS. *Science (New York, N.Y.)*, 147(3659), 747–748.
- Lundeen, S. G., & Savage, D. C. (1990).** Characterization and purification of bile salt hydrolase from *Lactobacillus* sp. strain 100-100. *Journal of bacteriology*, 172(8), 4171–4177.
- Luquet F.M. et Corrieu G., 2005.** Bactéries lactiques et probiotiques. Tec & Doc, Lavoisier. Paris.
- Ly-Chatain, MH, Le, ML, Le Thanh, M., Belin, JM, & Waché, Y. (2010).** Les propriétés de la surface cellulaire affectent la colonisation du lait cru par les bactéries lactiques au niveau de la microstructure. *Recherche alimentaire internationale*, 43 (6), 1594-1602.
- M/**
- Magnusson, J., Ström, K., Roos, S., Sjögren, J. et Schnürer, J. (2003).** Activité antifongique large et complexe parmi les isolats environnementaux de bactéries lactiques. *Lettres de microbiologie FEMS*, 219 (1), 129-135.
- Makhloufi, K. M. (2011).** *Caractérisation d'une bactériocine produite par une bactérie lactique Leuconostoc pseudomesenteroides isolée du boza* (Doctoral dissertation, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI).
- MAMECHE-DOUMANDJI, A. (2008).** *Purification et caractérisation de bactériocines produites par des bactéries lactiques autochtones isolées* (Doctoral dissertation, INA).
- Marteau, P., & Seksik, P. (2004).** Place des probiotiques dans la prévention et le traitement des diarrhées post-antibiotiques. *Revue Française des Laboratoires*, 2004(368), 73-76.
- Mattila-Sandholm, T., Mättö, J., & Saarela, M. (1999).** Lactic acid bacteria with health claims—interactions and interference with gastrointestinal flora. *International Dairy Journal*, 9(1), 25-35.
- Mattila-Sandholm, T., Myllärinen, P., Crittenden, R., Mogensen, G., Fondén, R., & Saarela, M. (2002).** Défis technologiques pour les futurs aliments probiotiques. *Journal laitier international*, 12 (2-3), 173-182.
- Mäyrä-Mäkinen A. et Bigret M., 2004.** Industrial use and production of lactic acid bacteria. In : *Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects* (Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). 3e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. 73-102.
- Mayra-Makinen, A., & Bigret, M. A. R. C. (2004).** Industrial use and production of lactic acid bacteria. *FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY-NEW YORK-MARCEL DEKKER-*, 139, 175-198.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Medjoudj, H., Aouar, L., Derouiche, M., Choiset, Y., Haertlé, T., Chobert, J. M., ...&Hayaloglu, A. A. (2020). Physicochemical, microbiological characterization and proteolysis of Algerian traditional Bouhezza cheese prepared from goat's raw milk. *Analytical Letters*, 53(6), 905-921.
- Mercha, I., Lakram, N., Kabbour, M. R., Bouksaim, M., Zkhir, F., & El Maadoudi, E. H. (2020). Probiotic and technological features of *Enterococcus* and *Weissella* isolates from camel milk characterised by an Argane feeding regimen. *Archives of Microbiology*, 202, 2207-2219.
- Mermouri, L., Dahmani, MA, Bouhafoun, A., Berges, T., Kacem, M., & Kaid-Harche, M. (2017). Criblage in vitro du potentiel probiotique de souches de *Lactobacillus* isolées à partir de produits fermentés algériens. *J. Pure Appl. Microbiol*, 11, 95-103.
- Metrouh, R. (2022). Caractérisation d'une collection de bactéries lactiques autochtones: étude des propriétés biotechnologiques et probiotiques (Doctoral dissertation, (حبست-صايعتانش دانش خانعشب انخبسُصايعتانشذانشخانعشبناخبسُ)).
- Meyers, S. A., Cuppett, S. L., & Hutkins, R. W. (1996). Lipase production by lactic acid bacteria and activity on butter oil. *Food microbiology*, 13(5), 383-389.
- Midassirou, B., Mahdhi, A., Chaieb, K., & Bakhrouf, A. (2012). Recherche des bactéries lactiques et étude in Vitro de leurs propriétés probiotiques. *Revue de Microbiologie Industrielle Sanitaire et Environnementale*, 6(2), 147-163.
- Millette, M., Luquet, FM, Ruiz, MT, & Lacroix, M. (2008). Caractérisation des propriétés probiotiques des souches de *Lactobacillus*. *Science et technologie laitières*, 88 (6), 695-705
- Misawa, N., & Blaser, M. J. (2000). Detection and characterization of autoagglutination activity by *Campylobacter jejuni*. *Infection and Immunity*, 68(11), 6168-6175. mohammed v de rabat).
- Monnet, C., Latrille, E., Béal, C., & Corrieu, G. (2008). Croissance et propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques.
- Morchide el Idrisi, H. (2017). Utilité des bactéries lactiques (Thèse de Doctora, université
- Mozes, N., Léonard, A., & Rouxhet, PG (1988). Sur les relations entre la composition superficielle élémentaire des levures et des bactéries et leur charge et leur hydrophobicité. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 945 (2), 324-334.
- N/
- Naidu, A. S., Bidlack, W. R., & Clemens, R. A. (1999). Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). *Critical reviews in food science and nutrition*, 39(1), 13-126.
- Nehal, F., Sahnoun, M., Smaoui, S., Jaouadi, B., Bejar, S., & Mohammed, S. (2019). Characterization, high production and antimicrobial activity of exopolysaccharides from *Lactococcus lactis* F-mou. *Microbial Pathogenesis*, 132, 10-19.
- Nousiainen, J., Javanainen, P., Setälä, J. et Wright, AV (2004). Les bactéries lactiques comme probiotiques animaux. *Bactéries lactiques : microbiologie et aspects fonctionnels*, (Ed. 3), 547-580.
- Ogunshe, AA, Omotoso, MA, & Bello, VB (2011). Les activités antimicrobiennes in vitro des métabolites des souches de lactobacilles sur les espèces de *Candida* impliquées dans la vaginite à *Candida*. *Journal malaisien des sciences médicales : MJMS*, 18 (4), 13 .
- Onda, T., Yanagida, F., Tsuji, M., Shinohara, T. et Yokotsuka, K. (2003). Production et purification d'un peptide de bactériocine produit par *Lactococcus* sp. souche GM005, isolée de Miso-paste. *Journal international de microbiologie alimentaire*, 87 (1-2), 153-159.
- P/
- Palomares, C., Pérez-Morales, R., & Acedo-Félix, E. (2007). Evaluation of probiotic properties in *Lactobacillus* isolated from small intestine of piglets. *Revista Latinoamericana de Microbiologia*, 49(3-4), 46-54.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Pan, D., & Mei, X. (2010). Antioxidant activity of an exopolysaccharide purified from *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 12. *Carbohydrate Polymers*, 80(3), 908-914.
- Pelletier, C., Bouley, C., Cayuela, C., Bouttier, S., Bourlioux, P., & Bellon-Fontaine, MN (1997). Caractéristiques de la surface cellulaire de *Lactobacillus casei* subsp. *casei*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* et des souches de *Lactobacillus rhamnosus*. *Microbiologie appliquée et environnementale*, 63 (5), 1725-1731.
- Percival, MARK (1997). Choisir un supplément probiotique. *ClinNutrInsights*, 6, 1-4.
- Pieniz, S. Martin de Moura, T. Vaz Cassenego, Ap, Andrezza, R. Guedes Frazzon, AP, Faciode Oliveira Camargo F, Brandelli, A (2014). Evaluation of resistance genes and virulence factors in a food isolated *En. Duranswith* potential probiotic effect. *Food Control*, 51, 49-54.
- Prasad, J., Gill, H., Smart, J., & Gopal, P. K. (1998). Selection and characterisation of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains for use as probiotics. *International Dairy Journal*, 8(12), 993-1002.
- R/  
**Rahmati, F. (2018).** Identification and characterization of *Lactococcus* starter strains in milk-based traditional fermented products in the region of Iran. *AIMS Agriculture and Food*, 3(1), 12-25.
- Rakhmanova, A., Khan, Z. A., & Shah, K. (2018).** A mini review fermentation and preservation: role of lactic acid bacteria. *MOJ Food Processing & Technology*, 6(5), 414-417.
- Raynaud, S., Perrin, R., Coccagn-Bousquet, M., & Loubière, P. (2005).** Adaptation métabolique et transcriptomique de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* en réponse à l'autoacidification et à la baisse de température dans le lait écrémé. *Microbiologie appliquée et environnementale*, 71 (12), 8016-8023.
- Reale, A., Di Renzo, T., Rossi, F., Zotta, T., Iacumin, L., Preziuso, M., ... & Coppola, R. (2015).** Tolérance des souches de *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* et *Lactobacillus rhamnosus* aux facteurs de stress rencontrés en agro-alimentaire et dans le tractus gastro-intestinal. *LWT-Food Science and Technology*, 60 (2), 721-728.
- Reis, J. A., Paula, A. T., Casarotti, S. N., & Penna, A. L. B. (2012).** Lactic acid bacteria antimicrobial compounds: characteristics and applications. *Food Engineering Reviews*, 4, 124-140.
- Ren, D., Li, C., Qin, Y., Yin, R., Du, S., Ye, F., ... & Jin, N. (2014).** In vitro evaluation of the probiotic and functional potential of *Lactobacillus* strains isolated from fermented food and human intestine. *Anaerobe*, 30, 1-10.
- Reyes-Gavilán, C. G., Suárez, A., Fernández-García, M., Margolles, A., Gueimonde, M., & Ruas-Madiedo, P. (2011).** Adhesion of bile-adapted *Bifidobacterium* strains to the HT29MTX cell line is modified after sequential gastrointestinal challenge simulated in vitro using human gastric and duodenal juices. *Research in microbiology*, 162(5), 514-519.
- Rodriguez, E., Arques, J. L., Nunez, M., Gaya, P., & Medina, M. (2005).** Combined effect of high-pressure treatments and bacteriocin-producing lactic acid bacteria on inactivation of *Escherichia coli* O157 : H7 in raw-milk cheese. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(7), 3399-3404.
- Roos, S., & Jonsson, H. (2002).** Une protéine de surface cellulaire de masse moléculaire élevée de *Lactobacillus reuteri* 1063 adhère aux composants du mucus. *Microbiologie*, 148 (2), 433-442.
- Rosenberg, M., Gutnick, D., & Rosenberg, E. (1980).** Adhérence des bactéries aux hydrocarbures : une méthode simple pour mesurer l'hydrophobicité de la surface cellulaire. *Lettres de microbiologie FEMS*, 9 (1), 29-33.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

S/

**Salminen, S., von Wright, A., Morelli, L., Marteau, P., Brassart, D., de Vos, W. M., ... & Mattila-Sandholm, T. (1998).** Demonstration of safety of probiotics—a review. *International journal of food microbiology*, 44(1-2), 93-106.

**Schilliger, U., & Lucke, F. K. (1989).** Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolate from meat. *Applied and Environmental Microbiology*, 55, 1901-6.

**Schillinger, U., & Lucke, F. K. (1989).** Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. *Applied and environmental microbiology*, 55(8), 1901-1906.

Schillinger, U., & Lücke, F. K. (1987). Identification of lactobacilli from meat and meat products. *Food Microbiology*, 4(3), 199-208. Hechard, Y., Dherbomez, M., Cenatiempo, Y., & Letellier, F. (1990). Antagonisme des bactéries lactiques du lait de chèvre contre les souches pathogènes évalué par la « méthode du sandwich ». *Lettres de microbiologie appliquée*, 11

(4), 185-188.

Sharma, R., Chisti, Y., & Banerjee, U. C. (2001). Production, purification, characterization, and applications of lipases. *Biotechnology Advances*, 19(8), 627-662.

**Song, M., Yun, B., Moon, JH, Park, DJ, Lim, K. et Oh, S. (2015).** Caractérisation de souches sélectionnées de *Lactobacillus* pour une utilisation comme probiotiques. *Journal coréen pour la science alimentaire des ressources animales*, 35 (4), 551 .

**Spanggaard, B., F. Jorgensen, L. Gram and H.H. Huss, (1993):** Antibiotic resistance in bacteria from three freshwater fish farms and an unpolluted stream in Denmark. *Aquaculture*, 115: 195-207.

**Surta L., Federighi M. et Jouve J-L., 1998.** *Listeria monocytogenes*: Manuel de bactériologie alimentaire. Polytechnica Paris: 133-159.

T/

**Tambekar DH, Bhutada SA. (2010).** An evaluation of probiotic potential of *Lactobacillus sp.* from milk of domestic animals and commercial available probiotic preparations in prevention of enteric bacterial infections. *Recent Research in Science and Technology*. 2(10) :82-88

**Tamime, A. Y., Marshall, V. M., & Robinson, R. K. (1995).** Microbiological and technological aspects of milks fermented by bifidobacteria. *Journal of Dairy Research*, 62(1), 151-187.

**Temmerman, R., Pot, B., Huys, G. et Swings, J. (2003).** Identification et sensibilité aux antibiotiques d'isolats bactériens issus de produits probiotiques. *Journal international de microbiologie alimentaire*, 81 (1), 1-10.

V/

**Vasiee, A., Falah, F., Behbahani, BA et Tabatabaee-Yazdi, F. (2020).** Caractérisation probiotique des souches de *Pediococcus* isolées à partir de produits fermentés céréaliers laitiers iraniens : Interaction avec les bactéries pathogènes et la lignée cellulaire entérique Caco-2. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 130 (5), 471-479.

**Vuillemard, J. C. (1986).** Microbiologie des aliments. *Evolution de l'activité protéolytique des bactéries lactiques. Technique & Documentaion, Lavoisier. Paris*, 3, 1-65.

**Vuyst, L. D., Avonts, L., & Makras, L. (2004).** Probiotics, prebiotics and gut health. *Functional foods, ageing and degenerative disease*, 416-482.

W/

Walling E.G., Indreau E. Et Lonvaud-Funel A., 2001. La biosynthèse d'exopolysaccharide par des souches de *pediococcusdamnosus* isolées du vin : mise au point de d'outils moléculaires de détection. *Inra*. 289-300

**Welman A.D. And Maddox I.S., 2003.** Exopolysaccharides from lactic acid bacteria, perspectives and challenges. *Trends in biotechnology*. Vol. 21, 269-274.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Wouters, J. T., Ayad, E. H., Hugenholtz, J., & Smit, G. (2002).** Microbes from raw milk for fermented dairy products. *International Dairy Journal*, 12(2-3), 91-109.
- Yıldız, F. (Ed.).(2010).** Development and Manufacture of Yogurt and Other Functional Dairy Products. CRC Press.
- Zago, M., Fornasari, M. E., Carminati, D., Burns, P., Suárez, V., Vinderola, G., ... & Giraffa, G. (2011).** Characterization and probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from cheeses. *Food Microbiology*, 28(5), 1033-1040.
- Zarour, K., Prieto, A., Pérez-Ramos, A., Kihal, M. et López, P. (2018).** Analyse des propriétés technologiques et probiotiques des souches algériennes de *L. mesenteroides* isolées à partir de produits laitiers et non laitiers. *Journal des aliments fonctionnels*, 49, 351-361.
- Zuo, FL, Feng, XJ, Chen, LL et Chen, SW (2014).** Identification et caractérisation partielle de bactéries lactiques isolées de produits laitiers traditionnels produits par des éleveurs dans les monts Tianshan occidentaux en Chine. *Lettres de microbiologie appliquée*, 59 (5), 549-556.

# **ANNEXES**

## Annexe I. Composition des milieux de culture et du tampon

*La composition est indiquée de composition gou ml par 1litre d'eau distillé*

### 1. Bouillon BGLBB (Brilliant Green Lactose Bile Broth)

- \* Digestion enzymatique de caséine .....10 ,00g
- \* Vert brillant .....0.0133g
- \* Lactose .....10,00 g
- \* Bile de Boeuf.....20,00g

### 2. Bouillon Fraser

#### Mileu de Base

- \* Protéose peptone .....5,00g
- \* Tryptone .....5,00g
- \* Extrait de viande « Lab-Lemco » .....5,00g
- \* Extrait de levure .....5,00g
- \* Chlorure de sodium .....20,00g
- \* Hydrogenophosphate disodique .....12,00g
- \* Dihydrogenophosphate de potassium..... 1,35g
- \* Esculine .....1,00g
- \* Chlorure de lithium..... 3,00g

### 3. Bouillon Nutritive

- \* Peptones .....10,00g
- \* Extrait de boeuf .....1,00g
- \* Extrait de levure .....2,00g
- \* Chlorure de sodium .....5,00g

### 4. Bouillon TSB (Tryptic Soy Broth)

- \* Glucose monohydraté .....2,5g
- \* Digestion pancréatique de caséine .....17g
- \* Chlorure de sodium .....5g
- \* Digestion papaïque de tourteau de soja .....3g



- \* Hydrogénophosphate dipotassique .....2,5g

**5. Eau péptonée tamponée**

- \* Peptone .....10,00g
- \* Chlorure de sodium .....5,00g
- \* Phosphate disodique anhydre .....3,5g
- \* Dihydrogénophosphate de potassium..... 1,5g

**6. Gélose Bark Parker**

**Milieu de Base**

- \* Peptone pancréatique de caséine.....10,00g
- \* Extrait de viande de bœuf .....5,00g
- \* Extrait de levure .....1,00g
- \* Chlorure de lithium .....5,00g
- \* Glycine .....12,00g
- \* Pyruvate de sodium .....10,00g
- \* Agar .....20,00g

**Le milieu prêt à l'emploi en boîtes de Pétri contient en plus des 950 ml du milieu de base**

- \* Solution de jaune d'œuf .....50,00 ml
- \* Tellurite de potassium à 10 g/l .....10,00 ml

**7. Gélose hypersaccharosée**

- \* Extrait de viande ..... 10,00g
- \* Extrait de levure .....3,00g
- \* Peptone .....2.5g
- \* Saccharose .....150,00g
- \* K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> ..... 2,00g
- \* NaCl..... 1,00g
- \* MgSO<sub>4</sub>, 7H<sub>2</sub>O..... 0.2g
- \* Agar..... 15,00g

**8. Gélose MH (Mueller Hinton)**

* Peptone .....	17,5g
* Extrait de viande .....	2,00g
* Amidon .....	1.5g
* Agar.....	17,00g

**9. Gélose MRS**

* Peptone .....	10,00 g
* Extrait de viande .....	8,00 g
* Extrait de levure deshydraté .....	4,00 g
* Dextrose.....	20,00 g
* Tween 80 (Sorbitane monoléate) .....	1,00 ml
* Hydrogène-orthophosphate dipotassique (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ) .....	2,00 g
* Acétate de sodium trihydraté (H <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> , 3H <sub>2</sub> O) .....	5,00 g
* Citrate de diamonique (C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>7</sub> (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ) .....	2,00 g
* Sulfate de magnésium hydraté (HOSO <sub>4</sub> 7H <sub>2</sub> O) .....	2,00 g
* Sulfate de magnésium tétrahydraté MNSO <sub>4</sub> , 4H <sub>2</sub> O .....	0.5 g
* Agar-Agar .....	10,00 g

**10. Gélose M17**

* Peptone tryptique de caséine .....	2.5 g
* Peptone pepsique de viande .....	2.5 g
* Peptone papainique de soja .....	5,00 g
* Extrait de levure déshydraté.....	2.5 g
* Extrait de viande .....	5,00 g
* Glycérophosphate de sodium .....	19,00 g
* Sulfate de magnésium héptahydraté MgSO <sub>4</sub> , 7H <sub>2</sub> O) ....	0.25g
* Acide ascorbique .....	0.5 g
* Agar-agar .....	10,00 g

**11. Gélose PALCAM**

* Gélose de base Columbia .....	39,00g
* Extrait de levure .....	3,00g

* Glucose.....	0,5g
* Esculine .....	0,8g
* Citrate de fer ammoniacal .....	0,5g
* Mannitol .....	10,00g
* Rouge de phéno.....	0,08g
* Chlorure de lithium .....	15,00g

**12. Gélose Sabouraud**

* Digestion peptique de tissus animaux .....	5.00g
* Digestion pancréatique de caséine.....	5.00g
* Dextrose .....	40.00 g
* Gélose.....	15.00g

**13. Tampon phosphate Salin (PBS)**

* Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	10.9g
* Na <sub>2</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	3.2g
* NaCl .....	90,00g

## Annexe 02 : Le BMC

<p><b><u>8. partenaires clés :</u></b></p> <p>1-membre de projet (des microbiologistes).</p> <p>2- les fournisseurs de labo médicales.</p> <p>3-les entreprises des ferments pour transport .</p>	<p><b><u>6. activités clés :</u></b></p> <p>1-Isolement.</p> <p>2-Conservation.</p> <p>3-Teste d'activité.</p> <p>4-Biomasse.</p> <p>5-Lyophilisation.</p> <p>6-Emballage.</p> <p>7-Transport et vente de ferment.</p>	<p><b><u>2. propositions de valeur:</u></b></p> <p>1-La production d'un ferment lactiques à effets probiotiques.</p> <p>2-L'arrêt de l'importation a encouragé la surproduction du ferment local.</p> <p>3-Le ferment local a plus d'avantage que celui de l'importation :de son coût de revenu, disponibilité et accessibilité.</p>	<p><b><u>4.relations avec les clients :</u></b></p> <p>1-Face à face</p> <p>2-Réseau sociaux (email, téléphone, site web...) 3-Par intermédiaire (les fournisseurs).</p> <p>Discuter directement le 4-coût de produit avec le client</p> <p>4-Garder une relation exemplaire avec le client de tel sorte qu'il soit un ambassadeur du produit.</p>	<p><b><u>1.Segments de clientèle:</u></b></p> <p>1-Les usines de production des produits fermentés : (Produits laitiers + végétaux fermentés viandes fumer.</p> <p>2-Les petites entreprises qui fabrique les produits fermentés Exportation des ferments vers les pays voisin et l'Afrique.</p>
	<p><b><u>7.ressources clés : 1-</u></b> Ressource matérielle : locale, bec bunsen, anse de platine, tube à essai, milieu de cultures (MRS), étuve, lyophilisateur, fermenter, ordinateur, véhicule, emballage, stock de produit.</p> <p><b><u>2-Ressource humaine :</u></b> fournisseur de produits nécessaire.</p>		<p><b><u>3. canaux de distribution :</u></b></p> <p>1-Contact direct avec les clients 2-Les annonces sur internet, vente en ligne (réseau sociaux site web.)</p> <p>3-Boutique en ligne (approvisionnement direct)</p>	

**9. structure des coûts :**

1- cout de matériels.

2-le loyer de locale.

3-frais de transport.

4-frais d'emballage. 5-  
publicité.

6-remboursement de prêt (en cas de présence).

**5. sources de revenus :**

1-Production de ferment a effet Probiotique.

2-Production de lipase.

3-Production des molécules bioactifs.

4-Préparation de yaourt par nôtre ferment.

5-Publicité.